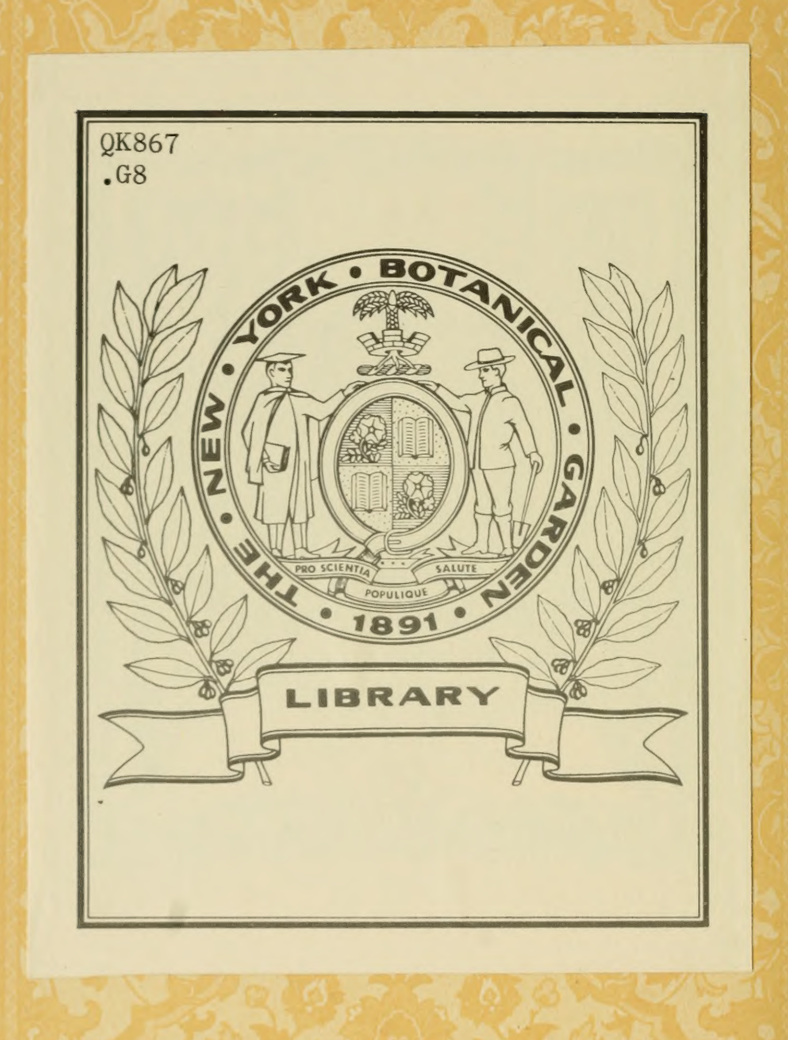
Grafe

Ernährungsphysiologisches Praktikum höherer Pflanzen



VERLAG VON PAUL PAREY IN BERLIN


THE NEW YORK • BOTANICAL GARDEN
PRO SCIENTIA
SALUTE
POPULIQUE
1891
LIBRARY





Ernährungsphysiologisches Praktikum der höheren Pflanzen.

Von

Dr. Viktor Grafe,

a. o. Professor an der Universität in Wien.



Mit 186 Textabbildungen

BERLIN

VERLAGSBUCHHANDLUNG PAUL PAREY

Verlag für Landwirtschaft, Gartenbau und Forstwesen

SW. 11, Hedemannstraße 10 u. 11

1914.

Altenburg
Piererche Hofbuchdruckerei
Stephan Geibel & Co.

Vorwort.

Das vorliegende Buch ist aus dem Bedürfnis entstanden, die Methodik, welche der ernährungsphysiologisch Arbeitende braucht, zusammenzustellen und damit einen methodischen Leitfaden für die ernährungsphysiologische Experimentaltechnik zu besitzen. In erster Linie sind es hier natürlich chemische Methoden, welche der Experimentator in Anwendung bringen muß, und da der Ausbau der gesamten Pflanzenphysiologie in den letzten Jahren mächtig nach der Richtung der Biochemie eingesetzt hat, wurde das Hauptgewicht auf die Schilderung der chemischen und chemisch-physikalischen Arbeitsweise gelegt. Aber der Begriff der Ernährungsphysiologie erweitert sich unter den Händen des Arbeitenden; er wird sehr häufig in die Lage kommen, nicht nur Stoffe darzustellen und nachzuweisen, sondern auch die Wasserbewegung der Pflanze, die Variationen des osmotischen Druckes, die Erscheinungen der Adsorption und Kapillarität, welche nach den neuesten Darlegungen von Küster Beziehungen zur Formbildung der Pflanze aufweisen, die Verhältnisse der Oberflächenspannung, welche nach den schönen Arbeiten von Czapek Einblick in die innersten Vorgänge des Stoffwechsels versprechen, in den Bereich seiner Untersuchungen zu ziehen.

Leider ist es nicht immer möglich, im Rahmen eines räumlich beschränkten Buches die Elemente der Chemie und Physikochemie zu bringen; doch wurde, wenn irgend möglich, auch dem Verständnis des chemisch nicht Vorgebildeten Rechnung getragen. Das Buch soll in erster Linie die Bedürfnisse des wissenschaftlich Arbeitenden decken; es wird aber vielleicht auch dem Landwirt nach mancher Richtung ein nicht unwillkommener Leitfaden sein, und auch der Studierende wird hier auf verhältnismäßig kleinem Raume zusammengestellt finden, was er sonst aus einer ungeheuer verzweigten Literatur heraussuchen müßte. Ist doch mein Buch geradezu aus der Notwendigkeit eines Leitfadens in meinem eigenen chemisch-physiologischen Praktikum hervorgewachsen. Die Einteilung des Stoffes ist eine durchaus physiologische, und innerhalb der einzelnen physiologischen Abschnitte ist die chemische und chemisch-physikalische Methodik untergebracht; es wurde aber Wert darauf gelegt, daß die geschilderten Methoden vor allem immer physiologisch begründet und durch physiologische Beispiele gestützt sind, so daß sich der physiologische Stoff zu einem Ganzen zusammenschließt. Indessen wurde nach dieser Richtung Vollständigkeit weder im Stoff noch in der Literaturausnutzung angestrebt, worauf der Autor umso leichter verzichten konnte, als er in kurzer Zeit Gelegenheit haben wird, dies in seiner im gleichen Verlag erscheinenden Pflanzenphysiologie nachzuholen.

Ich bin mir vollkommen des Umstandes bewußt, daß das vorliegende Buch der ernährungsphysiologischen Arbeitsmethodik der Hauptsache nach eine Zusammenstellung fremder methodischer Errungenschaften ist, gegen welche die geringfügigen eigenen methodischen Beiträge

verschwinden. Indessen muß hervorgehoben werden, daß der Stoff durchaus kritisch behandelt wurde und daß mit wenigen Ausnahmen nur jene Methoden Aufnahme fanden, die ich selbst im Verfolge meiner wissenschaftlichen Arbeiten zu erproben Gelegenheit gehabt habe oder die ich im Praktikum als durchführbar und zweckmäßig befunden hatte. Dabei wurde ausschließlich Rücksicht auf makrochemische Methoden genommen, da wir ja neuestens in der Mikrochemie von H. Molisch einen ausgezeichneten und zuverlässigen Leitfaden nach dieser Richtung gewonnen haben.

Mein Buch schließt sich eng an das vielbändige Sammelwerk von Abderhaldens Biochemischen Arbeitsmethoden an, und die Benutzung dieses Werkes erleichterte meine Aufgabe wesentlich. So konnte ich manche Angaben, die in mitunter schwer zugänglichen Publikationen niedergelegt sind, in einigen Beiträgen dieses Handbuches behandelt finden, das ich vielfach zu Rate gezogen habe: Dies gilt z. B. von den meist in russischer Sprache erschienenen Abhandlungen, die ich in dem schönen Referate von W. Palladin und S. Kostytschew, „Methoden zur Bestimmung der Atmung der Pflanzen“ enthalten fand. Endlich habe ich auch einige meiner eigenen Beiträge zu diesem Werke, wie „Nachweis von Alkaloiden“, „Anwendung von Adsorption und Kapillarität zur biochemischen Analyse“, „Das Sterilisieren lebender Pflanzen“, „Gas- und Wasserbewegung in der Pflanze“, „Beschleunigung von Wachstum und Treiben“, den betreffenden Abschnitten des vorliegenden Buches zu Grunde gelegt.

Wenn ich trotz Vorhandenseins des Abderhaldenschen Handbuches es unternahm, eine Methodik der pflanzlichen Ernährungsphysiologie zu schreiben, so lag die Veranlassung zunächst darin, daß das genannte Werk viel zu umfangreich für den Pflanzenphysiologen ist und naturgemäß der Hauptsache nach Beiträge enthält, die unser Gebiet wenig oder gar nicht berühren, dann aber auch darin, daß das physiologische Moment die entsprechende Berücksichtigung finden sollte, das dort hinter dem rein biochemischen zurücktritt. Es mußte also nicht nur geschildert werden, wie das Material eines abgebrochenen physiologischen Versuches zu behandeln ist, sondern gerade in erster Linie, wie ein solcher Versuch angesetzt werden muß, wie die verschiedenen Einflüsse bei der Keimung des Samens und den weiteren Vegetationsverhältnissen der Keimpflanze zu werten sind.

Mein Buch soll aber nicht bloß ein „ernährungsphysiologisches Praktikum“ im bisher gebrauchten Sinne des Wortes sein, sondern eine Zwischenstellung zwischen den bestehenden vorzüglichen Lehrbüchern für physiologische Schulversuche, also dem „Pflanzenphysiologischen Praktikum“ von W. Detmer, der „Vorschule der Pflanzenphysiologie“ von K. und L. Linsbauer, der „Physiology of Plants“ von F. Darwin und. H. Acton, dem „Laboratory Course in plant physiology“ von F. Ganong einerseits und den „Biochemischen Arbeitsmethoden“ anderseits einnehmen, es soll vornehmlich die physiologische und chemische Methodik der Ernährungsphysiologie höherer Pflanzen bringen. Damit soll aber nicht gesagt sein, daß nicht auch die letztgenannten Werke vielfach Hilfsquellen für mich geworden sind, besonders die beiden englischen Bücher waren mir in vielem wertvolle Ratgeber, denen ich ebenso wie dem Abderhaldenschen Handbuch auch einige Illustrationen entnommen habe.

Überhaupt wurde auf eine reichhaltige Illustration der geschilderten Apparate Wert gelegt, und es ist mir eine angenehme Pflicht, des

weitgehenden Entgegenkommens des Verlages dankbar zu gedenken. Auch die Zeichnungen wurden, selbst wenn sie von bestehenden Darstellungen entnommen wurden, doch gewöhnlich im Vergleich mit der eigens zu diesem Zweck zusammengestellten Apparatur und daher vielfach abgeändert, angefertigt. Herrn Assistenten J. Gicklhorn, der sämtliche Bilder gezeichnet hat, bin ich für seine hingebungsvolle Mühe zu größtem Danke verpflichtet, ebenso meinen verehrten Kollegen, Herrn Prof. Dr. O. Richter und Herrn Privatdozent Dr. V. Vouk, die mir eine Reihe von Photographien nach eigenen Versuchen für die Reproduktion zu überlassen die Güte hatten. Endlich schulde ich den besten Dank auch den Herren stud. phil. Richard Klein und H. Baar, die sich der großen Mühe des Korrekturlesens bereitwillig unterzogen.

Die beschriebenen Apparate sind größtenteils nach meinen Angaben für mich von der Firma Rud. Siebert, Wien IX., Garnisongasse, angefertigt oder nach den Angaben der betreffenden Autoren zusammengestellt worden.

Ich habe selbst als Studierender und später auch als Dozent den Mangel eines methodischen Leitfadens in meinem Arbeitsgebiete unangenehm empfunden, und meine Mühe wäre reichlich belohnt, wenn ich mit meinem Buche einem gleichgefühlten Bedürfnis der Fachkollegen wenigstens einigermaßen entgegengekommen wäre.

Wien, im Januar 1914.

Viktor Grafe.

Druckfehler und Berichtigungen.

S. 14 Anmerkung, statt „Befruchtung“ richtig „Befeuchtung“.
„ 15 Zeile 9 von unten statt „and“ richtig „und“.
„ 22 Zeile 19 von oben statt „Fig. 3“ richtig „Fig. 5“.
„ 24 Zeile 8 von oben statt „bei 90° C“ richtig „bei 40° C“.
„ 26 Zeile 2 von oben statt „G. Lehmann“ richtig „E. Lehmann“.
„ 85 Beschriftung unter Fig. 20 statt „belden“ richtig „beiden“.
„ 97 Zeile 22 von oben statt „rechts“ richtig „links“.
„ 99 Zeilen 16 und 22 von oben statt „J“ richtig „I“.
„ 114 Zeile 4 von oben statt „Fig. 47“ richtig „Fig. 44“.
„ 115 Beschriftung unter Fig. 46 statt „Glasblasen“ richtig „Gasblasen“ und statt „unter“ richtig „außer“.
„ 119 Anmerkung Zeile 1 statt „die“ richtig „den“.
„ 138 Zeile 1 von unten statt „(Fig. 55)“ richtig „(Fig. 56)“ und S. 139 Zeile 14 von oben statt „(Fig. 56)“ richtig „(Fig. 55“).
„ 148 Zeile 14 von unten statt „die“ richtig „der“; S. 152 Zeile 19 von oben statt „drei Stunden“ richtig „2½ Stunden“; S. 159 Zeile 26 von oben statt „Eiweißfüllung“ richtig „Eiweißfällung“.
„ 172 Zeile 10 von unten statt „Phloroglucinlösung“ richtig „Furfurol- oder Formaldehydlösung“.
„ 177 Beschriftung unter Fig. 60 statt „Entfaltung“ richtig „Entfettung“ und statt „Fig. 61“ richtig „Fig. 59“.
„ 179 Zeile 10 von unten „plus dem“ richtig „subtrahiert vom“.
„ 180 Zeile 1 von unten statt „welchem“ richtig „welcher“.
„ 194 Zeile 17 von unten statt „dtickstoff“ richtig „Stickstoff“; Zeile 18 von unten statt „Sienen“ richtig „dienen“.
„ 196 Zeile 5 von oben nach „Hafer“ ist ein Strichpunkt zu setzen. Auf Zeile 8 und 11 von oben hat es statt „Hafer“ zu heißen „Senf“; auf Zeile 11 von unten statt „Senf“ richtig „Hafer“; auf Zeile 5 von unten statt „diesen“ richtig „vielen“.
„ 200 Zeile 2 von oben statt „öslich“ richtig „löslich“.
„ 206 Zeile 1 von unten: nach „Gesamtstickstoff“ einzufügen „in Milligrammen“.
„ 241 Zeile 15 von unten statt „Jodaklimethode“ richtig „Jodkalimethode“.
„ 261 Zeile 24 von oben statt „Kalziumoxalat“ richtig „Kalziummalat“.
„ 267 Zeile 10 von unten statt „Tropfens“ richtig „Tropfen“.
„ 269 Zeile 1 von unten statt „50 ccm“ richtig „50 ccm Wassers“.
„ 305 Zeile 17 von oben statt „Halm“ richtig „Helm“ und Zeile 7 von unten statt „möglich“ richtig „unmöglich“.
„ 318 Zeile 26 von oben statt „Fl“ richtig „w_2“ und Zeile 28 statt „w_2“ richtig „w_3“; Zeile 30 statt „w_3“ richtig „w_2“.
„ 321 Zeile 12 von unten statt „Apperatur“ richtig „Apparatur“.
„ 335 Zeile 11 von oben statt „i . . . . (3)“ richtig „i₁ . . . . (3)“.
„ 339 Zeile 8 von oben statt „gleich groß“ richtig „proportional“.
„ 348 Zeile 17 von oben statt „Sauerstoffabsorption“ richtig „Sauerstoffabgabe“.
„ 349 Zeile 7 von oben nach „ist“ einzuschalten „in der Regel“.

Inhalt.

I. Anzucht von Keimlingen.

Samen, Früchte können in der Regel erst zu keimen, Knollen, Zwiebeln usw. erst zu treiben beginnen, wenn ihnen, von der Notwendigkeit der Überwindung des physiologischen Ruhezustandes ganz abgesehen, Wasser zugeführt wird: erst dann verändern sie sich in auffallender Weise. Es gibt wohl Reserveorgane, wie die Knollen von Sauromatum guttatum, die auch ohne Wasserzufuhr von außen, günstige Temperaturbedingungen vorausgesetzt, zu treiben vermögen, aber sie bilden vereinzelte Ausnahmen. Betrachten wir zunächst die Samen, so ist die notwendige Vorstufe der Keimung bei ihnen eine **Quellung.** Die Samen werden 10—24 Stunden in Leitungswasser eingelegt, wobei sie unter Wasseraufnahme ihr Volumen bedeutend erhöhen; das Anquellen darf natürlich niemals in geschlossenen Gefäßen geschehen, weil die Wasseraufnahme den Zellturgor beträchtlich vergrößert, wodurch das verschlossene Gefäß gesprengt werden kann. Die Zeit des Anquellens richtet sich nach den anatomischen Verhältnissen, in erster Linie nach der Durchlässigkeit der Samenhaut (Testa). Hand in Hand mit den Imbibitionsprozessen vollziehen sich osmotische Prozesse zwischen den Samenzellen, welche mit Fortschreiten des Quellungsvorganges größere Dimensionen annehmen müssen, da mit der Aufnahme des Wassers in das Innere des Samens wohl gleichzeitig die Aktivierung von Enzymen und mit ihr die Produktion löslicher Stoffe aus den Reservestoffen des Samens einsetzt; schon das Aufquellen der Stärke bedeutet eine Etappe zu deren Hydrolyse. Das Wasserquantum, welches von den verschiedenen Arten der Samen verbraucht wird, ist sehr verschieden; dafür sind wechselnde Momente maßgebend, zunächst natürlich der ursprüngliche Wassergehalt des lufttrockenen Samens; ferner die anatomischen Verhältnisse der Testa, dann aber auch die chemische Eigenart des Reservestoffes. Auch die Dauer der vollkommenen Durchtränkung mit Wasser ist sehr verschieden; wenn aber der Quellprozeß einmal eingeleitet ist, verläuft er gewöhnlich sehr rasch. Wie erwähnt, setzt gleichzeitig die Hydrolyse der hochmolekularen Reservestoffe ein, wodurch osmotisch wirksamere Substanzen entstehen; natürlich ist das in erster Linie bei Stärkesamen der Fall, so daß die Angabe von J. Böhm, daß quellende Erbsen einen Druck von 18 Atmosphären, das ist den einer Quecksilbersäule von 13,5 m Höhe, zu überwinden vermögen, aus der osmotischen Wirksamkeit der Glukose verständlich wird. Die Entstehung wasserlöslicher, permeierender Substanzen erklärt es auch, daß Detmer bei dreißig weißen Riesenerbsen, die im lufttrockenen Zustande 11,6 g wogen, nach 48 Stunden einen Gewichtsverlust von 0,052 g an Samensubstanz konstatierte, welche an das destillierte Wasser, mit dem sie in Berührung

gestanden hatten, abgegeben worden waren. Diese Verluste betreffen natürlich in erster Linie auch Mineralsubstanzen und werden um so beträchtlicher ausfallen, je größer das osmotische Gefälle zwischen Zellsaft und Quellungsflüssigkeit ist, sie werden also beim Anquellen in destilliertem Wasser am beträchtlichsten sein. Da es aber schon in diesem Keimungsstadium, bei der Enzymaktivierung und dem Aufbau der embryonalen Teile, nicht gleichgültig ist, ob dem Samen Mineralstoffe zugeführt werden, er auf seinen eigenen Aschengehalt angewiesen bleibt oder davon gar nach außen abgeben muß, so wird sich, abgesehen von der Giftwirkung des destillierten Wassers, ein Anquellen in solchem nicht empfehlen. In fruchtbarem Boden oder in einer zusagenden Nährstofflösung entwickeln sich daher gleich von Anfang an alle Organe kräftiger und freudiger, schwächliche Entwicklung der Anlagen macht sich gewöhnlich auch noch später bei der Weiterentwicklung des heranwachsenden Keimlings geltend. Das Wasser, welches die Hydrolyse bewirkt, kann, wie erwähnt, bei fleischigen Reserveorganen auch aus dem Zellkörper der Knolle, des Rhizoms usw., bezogen werden; ein prägnantes Beispiel dafür liefert mein Befund an Zichorienwurzeln, bei denen Inulin, teils im Zellstoff gelöst, teils in kolloidaler Ausfällung, den Reservestoff vorstellt. Bekanntlich ist der Gefrierpunkt einer Lösung gegen den des reinen Wassers herabgesetzt und solche Lösungen in der Zelle bedeuten für die betreffende Pflanze dadurch einen Schutz gegen das Erfrieren, welches ja nach den Forschungen von Molisch[1]) hauptsächlich in einem Wasserentzug besteht. Die Zichorienwurzel kann in der Tat relativ tiefe Temperaturen vertragen, ohne daß ein Erfrieren oder durch Bildung von Eisnadeln Gefrieren stattfindet. Aber dadurch bleibt das Wasser auf lange Zeit für die Hydrolyse des Inulins disponibel, welche unter dem Einflusse niedriger Temperaturen gefördert wird, wobei die entstandene Lävulose im Stoffwechsel verschwindet. Bei etwa — 5 ⁰ kommt es aber dennoch zu einem Gefrieren der Lösung, worauf die Hydrolyse augenblicklich stillsteht. Die Zahlen, welche die genannten Befunde illustrieren, sind folgende:

Wurzeln bei Temperaturen von	Lävulose nach Kälteexposition von 5 Tagen %	10	14	21	Inulin nach Kälteexposition von 5 Tagen %	10	14	21
+ 15 ⁰ „ . . .	6,23	6,71	6,10	5,98	62,3	60,00	61,98	60,72
+ 10 ⁰ „ . . .	6,03	6,61	5,97	6,22	62,00	61,73	61,65	62,22
+ 5 ⁰ „ . . .	5,99	7,38	7,98	8,35	55,00	51,6	45,33	40,00
+ 3 ⁰ „ . . .	6,77	8,92	9,00	9,24	49,11	38,7	35,32	28,67
+ 1 ⁰ „ . . .	7,87	9,33	10,00	10,54	45,2	34,31	25,66	20,00
— 0 ⁰ „ . . .	8,39	10,21	10,32	9,68	45,87	39,31	30,00	15,86
— 2 ⁰ „ . . .	10,53	11,82	11,00	10,66	38,63	24,39	19,98	12,11
— 5 ⁰ „ . . .	10,00	9,89	10,22	10,77	15,32	14,78	14,33	13,21
— 7 ⁰ „ . . .	9,11	9,65	9,33	9,00	13,67	13,00	12,99	12,57

Die Zahlen entsprechen dem Mittel aus je drei Analysen.

Über die Menge des bei der Quellung absorbierten Wassers haben

[1]) H. Molisch, Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Jena 1897.

R. Hoffmann[1]) und Nobbe[2]) Untersuchungen angestellt; die lufttrockenen Samen und Früchte nahmen durchschnittlich an Wasser auf:

	Hoffmann %	Nobbe %		Hoffmann %	Nobbe %
Weizen	45,5	60,0	Luzerne	56,0	87,8
Gerste	48,2	—	Weißklee	126,7	89,0
Roggen	57,7	—	Rotklee	117,5	105,3
Hafer	59,8	—	Mohn	91,0	—
Buchweizen	46,9	—	Raps	51,0	48,3
Mais	40,0	34,8	Ölrettig	8,0	59,5
Hirse	25,0	—	Leindotter	60,0	—
Linse	93,4	—	Hanf	43,9	—
Erbse	106,8	84,0	Sonnenblume	56,5	—
Weiße Bohne	92,1	—	Weiße Rübe	62,5	51,8
Kreuzbohne	—	117,5	Zuckerrübe	120,5	—
Schminkbohne	—	100,7	Pinus austriaca	—	35,8
Saubohne	104	157	Wicke	75,4	—

Natürlich müßte man, um genaue Zahlen zu erhalten, auf die Abgabe von Gasen und gelösten Stoffen Rücksicht nehmen, sie kommen aber gegenüber den großen aufgenommenen Wasserquantitäten, welche z. B. bei Vicia Faba das Anderthalbfache des Samengewichtes betragen, wenig in Betracht. Die Mengen des aufgenommenen Quellungswassers sind besonders bei den Samen der Papilionaceen sehr beträchtlich, was wohl auf Rechnung der hier vorhandenen Quellschicht im Gewebe der Testa zu setzen ist, während die Früchte der Gramineen und die Fettsamen viel weniger Wasser aufnehmen. Nicht nur tropfbar flüssiges Wasser kann aufgenommen werden sondern auch Wasserdampf aus der feuchtigkeitsgesättigten Atmosphäre; die Zunahme des Samengewichtes in einem dampfgesättigten Raume betrug in neun Tagen nach den Versuchen Nobbes 16,5 %, während die Samen, an trockener Luft ausgebreitet, je nach der Höhe der Schicht $\frac{1}{2}$—$1\frac{1}{2}$ % an Gewicht verloren. Durch einen die Konstanz der Temperatur sorgfältig beachtenden Versuch Detmers wurde bei Erbsen eine Wasseraufnahme aus der Atmosphäre im Betrage von 1,2 % festgestellt. Indessen sind diese Mengen nicht genügend, um Keimung zu ermöglichen, was ja schon daraus hervorgeht, daß beim normalen Anquellen in flüssigem Wasser das hundertfache Quantum aufgenommen wird und demnach zur Einleitung der physiologischen Keimungsvorgänge auch sicherlich notwendig ist. Ein Same kann freilich auch in feuchtem Raume zur Keimung gebracht werden, aber nur dann, wenn infolge von Temperaturdifferenzen Wasserdampf zur Flüssigkeit kondensiert wird, welche der Same dann aufnimmt.

Nicht alle Samen einer größeren ausgelegten Quantität keimen, unter günstige Keimungsbedingungen versetzt, aus; die Keimfähigkeit hängt von den verschiedensten individuellen Eigenschaften, wie Alter, Reifegrad, Spezifität des Individuums, ab; das Keimprozent wird in Prozenten der ausgelegten Samenmenge angegeben. Verschieden ist ferner bei gleichbleibenden äußeren Bedingungen die Keimungsenergie je nach der Individualität, was man daran erkennt, daß einzelne Samen früher, andere später nach dem Auslegen auskeimen. Im allgemeinen

[1]) R. Hofmann, Jahresber. für Agrikulturchemie 1864, S. 108, nach W. Detmer.

[2]) Nobbe, Handbuch der Samenkunde, S. 119, nach W. Detmer. Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses der Samen. Jena 1880, S. 52.

kann man wohl bei Samen derselben Ernte ein ungefähr gleichmäßiges Verhalten vorhersagen, wenn man darauf bedacht ist, Samen von möglichst gleichem Volumen zu wählen. Das ist besonders für solche Versuche wichtig, in welchen Vergleichskulturen unter verschiedenen äußeren Bedingungen aufgestellt werden sollen; man darf also für solche Versuche nicht nur nicht ungleich große Samen verwenden, sondern muß auch darauf achten, daß sich die ausgewählten Samen schon von der Keimung an annähernd gleich verhalten; man vergleiche also nicht etwa solche, bei denen das Würzelchen nach dreitägiger Keimung eben erst herausgetreten ist, mit anderen, bei denen es nach derselben Keimungszeit etwa schon mehrere Zentimeter erreicht hat; anderseits verwende man wieder nicht morphologisch annähernd gleiche, aber ungleich lang angekeimte Samen.

Daß beim Anquellen schon eine Hydrolyse der hochmolekularen Reservestoffe statthat, beweist uns das überaus leichte und schnelle Verpilzen angequollener Samen, welche Befallspilzen eben durch ihren Reichtum an leicht assimilierbarer organischer Substanz einen ausgezeichneten Nährboden bieten. Nobbe konstatierte, daß vereinzelte Samen manchmal allerdings nach einiger Zeit normal aufquellen, aber ohne zu keimen monatelang in wasserdurchtränktem Zustande verharren können, ohne selbst unter günstigsten Bedingungen zu keimen. Bezeichnenderweise faulen solche Samen ebensowenig wie nichtgequollene, ein Beweis, daß hauptsächlich die Molekülverkleinerung durch Hydrolyse den Saprophyten Angriffsflächen bietet. Hier ist also die Testa für Wasser durchlässig, aber eine Enzymaktivierung bleibt aus. Wir werden später davon zu sprechen haben, daß die verschiedensten Substanzen, besonders aber H^+- und OH^--Ionen als energische Keimungsreize wirken können. Hier sei noch auf das Seitenstück der eben erwähnten Erscheinung hingewiesen, daß nämlich eine Aufquellung längere Zeit, im Extrem selbst nach Jahren nicht erfolgt, weil die Testa dem Eindringen des Wassers entsprechenden Widerstand entgegensetzt. Das ist namentlich bei den Samen von Papilionaceen, aber auch bei Rumex crispus, bei Chenopodium album u. a. der Fall. Nobbe ließ in zwei Partien je tausend Samen von Trifolium pratense in destilliertem Wasser, das von Zeit zu Zeit erneuert wurde, anquellen, wobei das Wasser auf 19—21 °C gehalten wurde, und fand Quellung nach

Tagen	Partie I	Partie II	Tagen	Partie I	Partie II	Tagen	Partie I	Partie II
1	919	927	19	—	3	48	—	1
3	5	8	21	—	3	52	1	1
5	9	9	24	5	2	55	—	1
9	7	4	26	1	1	56	1	1
10	4	1	31	1	2	59	3	—
13	3	4	32	2	3	91	—	3
15	2	3	36	1	2	147	1	4
16	1	2	43	—	2	156	4	3
						Summe:	970	990

Von 400 Robiniensamen waren zehn Stück erst nach zirka einem Jahre, einer nach zwei und zwei Stück erst nach drei Jahren gequollen. Die Samen anderer Pflanzenarten quellen zwar relativ leicht, aber die aufgenommenen Wassermengen sind doch wenig beträchtlich, z. B. bei Erbsen und Bohnen, während sich bei Lupinen- und Kleesamen sehr große Unterschiede in der Raschheit der Quellung bei den einzelnen Individuen einstellen. Binnen 48 Stunden sind bei Erbsen und Bohnen

in der Regel alle Individuen gequollen. Detmer fand bei Riesenerbsen nach 24 stündiger Quellung eine Aufnahme von rund 90 %, während bei den mit einer wasserabsorbierenden Schleimschicht versehenen Samen von Salvia pratensis, Linum usitatissimum, Cydonia vulgaris eine gleichmäßig reichliche Wasseraufnahme beobachtet wurde, so bei Cydonia 500 % vom Gewichte des trockenen Samens nach 24 stündiger und 100 % nach einstündiger Quellung. Samenindividuen von Riesenerbsen von größerem absoluten Gewicht absorbierten stets absolut mehr Wasser als die leichteren Samen, dagegen relativ weniger als diese, während besonders leichte Samen wieder relativ weniger Wasser aufnahmen als die mittleren. Nach demselben Autor verläuft das Tempo der Quellung in einer eingipfligen Kurve, indem die Wasseraufnahme zunächst geringfügig ist, dann energischer wird, um schließlich wieder abzunehmen.

Es sei noch eine Tabelle von Dimitrievicz[1]) reproduziert, welcher die *Wasseraufnahme verschiedener Samen bei der Quellung* untersuchte:

Dauer der Quellung in Stunden

		6		12		24		48	
		Vol.-Zunahme	Gew.-Zunahme	Vol.-Zunahme	Gew.-Zunahme	Vol.-Zunahme	Gew.-Zunahme	Vol.-Zunahme	Gew.-Zunahme
Rotklee bei	0 °	81,2	60,0	112,5	89,0	131,2	107,0	143,7	115,7
	10 °	87,5	68,2	118,7	93,0	137,5	109,2	143,7	116,3
	15 °	131,2	100,2	143,7	113,7	137,5	111,5	143,7	116,8
	35 °	156,2	118,7	156,2	120,8	156,2	120,0	150,0	117,7
Raps bei	0 °	31,5	35,5	47,3	48,5	52,6	55,0	52,6	56,0
	10 °	31,5	37,0	57,8	53,4	52,6	56,0	52,6	56,0
	15 °	52,6	52,2	52,6	55,0	52,6	57,0	47,3	56,0
	35 °	52,6	55,7	57,8	56,8	63,1	63,9	57,8	58,0
Kichererbse bei	0 °	73,3	60,0	113,3	79,5	133,3	91,6	133,3	101,0
	10 °	93,3	63,5	113,3	82,2	133,3	100,0	133,3	101,0
	15 °	106,6	75,0	133,3	97,5	133,3	101,5	133,3	101,5
	35 °	133,3	97,5	133,3	99,0	133,3	101,5	133,3	101,3

Bei Klee und Erbsen war also eine beträchtliche, bei Raps eine unbedeutende Gewichtszunahme eingetreten. Bei den ersteren wiegt die prozentische Zunahme an Volumen vor, bei Raps ist das Gegenteil zu bemerken; das größte Volumen hat der Klee bei 35 ° C schon in 6 Stunden erreicht, nämlich 156,2 % des ursprünglichen Volumens, das größte Gewicht bei dieser Temperatur erst in 12 Stunden, nämlich 120,8 %; von da ab hat eine Volum- und Gewichtsabnahme stattgefunden. Raps hat sein größtes Volumen und Gewicht bei 15 ° in 24 Stunden, Erbse bei 0 ° in 24 Stunden das größte Volumen, bei 15 ° in 24 Stunden das größte Gewicht angenommen. Temperatur und Quellungsdauer beeinflussen aber nicht nur die Ergebnisse der Quellung selbst, sondern nach dem Trocknen und Lagern bei Zimmertemperatur nimmt Gewicht und Volumen wieder ab, welche Abnahme mit erhöhter Temperatur und Dauer bei der Quellung größer wird. Auch die Farbe erleidet durch die Quellung Veränderungen, der Klee erscheint nach dem Abtrocknen blaßbräunlich, der Raps heller und rötlich, die Erbse weißlich. Da der Keimungsprozeß erst nach einer bestimmten Wasseraufnahme einsetzt, diese aber bei

[1]) Wissenschaftlich-praktische Untersuchungen auf dem Gebiete des Pflanzenbaues. Wien 1875, S. 75.

Quellzeit[1])

Tage	1		2		3		4		5		7		9	
	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit
Weizen	98	4,00	98	1,12	96	1,14	94	1,02	96	1,00	90	1,06	90	1,31
Gerste	72	2,75	70	1,28	18	1,87	4	9,00	18	2,33	4	10,00	—	—
Hafer	94	3,00	86	1,88	80	2,10	64	3,18	70	3,35	22	4,49	48	2,91
Roggen	92	1,22	98	1,24	100	1,32	80	1,05	78	1,07	28	1,64	8	3,05
Mais	96	1,54	92	1,52	100	2,44	84	2,26	84	3,16	64	4,56	44	6,13
Rispenhirse . . .	100	1,08	100	1,04	96	1,02	100	1,14	88	1,13	68	1,41	58	1,69
Moorhirse	94	3,02	84	3,14	62	4,60	54	5,48	88	4,61	50	5,80	44	10,68
Engl. Raigras . .	88	3,93	98	2,94	98	4,44	88	3,09	78	3,48	88	4,38	81	3,54
Franz. Raigras .	2	12,00	28	4,18	62	10,63	38	9,05	2	3,00	4	15,00	14	9,66
Lein	68	2,23	78	2,76	66	4,45	72	3,03	30	4,66	34	3,50	38	4,31
Raps	80	2,00	90	2,73	82	2,27	92	2,62	98	2,69	80	2,07	74	3,81
Sonnenblume . .	56	1,85	92	1,87	80	1,95	56	2,00	80	2,15	64	3,69	68	2,92
Hanf	88	1,28	86	1,32	80	1,60	74	2,11	74	2,97	74	1,48	62	1,48
Bohne	92	2,22	92	3,43	80	4,90	72	6,16	92	8,60	28	10,43	16	13,00
Wicke	96	1,28	98	1,20	94	1,42	92	1,54	88	1,65	94	2,06	92	5,86
Erbse	96	1,04	96	1,58	92	1,48	84	1,33	88	1,20	88	1,32	80	3,10
Linse	98	1,02	94	1,21	96	1,18	90	1,51	92	1,52	94	2,27	80	3,47
Lupine	100	1,20	100	1,18	96	1,70	92	2,00	88	2,41	56	3,71	20	4,00
Rotklee	86	1,33	92	1,21	82	1,24	84	1,34	90	4,31	80	1,35	74	1,89
Luzerne	76	1,68	76	1,71	80	2,32	78	2,03	72	1,72	66	1,75	56	3,03
Bibernell	80	4,00	76	3,31	78	4,05	74	4,89	68	6,88	84	6,09	72	6,91
Krapp	28	9,43	24	5,33	32	5,78	56	8,07	42	8,09	48	7,58	40	8,40
Möhre	28	6,00	42	6,47	66	4,54	58	5,23	86	6,08	46	4,48	36	5,66
Runkelrübe . . .	92	5,32	100	2,68	100	3,96	100	3,96	40	9,10	88	4,36	92	5,17
Kornrade	28	30,10	30	23,5	26	21,46	96	22,87	8	28,92	18	30,22	10	3,40
Buchweizen . . .	94	3,04	98	2,79	28	4,05	84	3,74	72	5,75	54	4,93	74	5,96

erhöhter Temperatur rascher vor sich geht, vollzieht sich schon aus diesem rein mechanischen Grunde die Keimung bei höherer Temperatur schneller. Allzulanges Quellen bringt für die Keimung Nachteile mit sich und es ist darum nicht uninteressant, sich zu vergegenwärtigen, wie lange verschiedene Samen ihre Keimfähigkeit beibehalten, wenn sie den ungünstigen Einflüssen einer langdauernden Quellung in fließendem Wasser ausgesetzt werden[2]) (siehe die Tabelle oben).

Die in der ersten Spalte (nach 24 stündiger Quellung) angeführten Zahlen gelten gleichzeitig als Maßstab für die Keimfähigkeit. Aus der Tabelle ergibt sich, daß bei den meisten Samen auch nach 28 tägiger Behandlung mit Wasser die Keimfähigkeit noch erhalten geblieben ist, Rübensamen keimt selbst nach einer Quelldauer von 69 Tagen noch zur Hälfte, dagegen hat Gerste schon binnen neun, Roggen binnen 9—13 Tagen die Keimfähigkeit eingebüßt. Die Dauer der ohne Beeinträchtigung der Keimung möglichen Quellung hängt mit der Festigkeit und Undurchlässigkeit der Samenschale zusammen, denn sowie das aufgenommene Wasser eine gewisse Grenze überschritten hat, nimmt die Keimfähigkeit ab, indem einzelne Samenbestandteile gelöst fortgeführt werden und Wasser an ihre Stelle tritt. Dieser Gewichtsverlust betrug in kaltem

[1]) Nach Ablauf der in der Tabelle in Tagen angegebenen Quellzeit wurden die Samen aus dem Wasser herausgenommen und zum Keimen ausgelegt. Multipliziert man die Zahl der Tage, während welcher die Samen ausgelegt waren, mit der Anzahl der jedesmal gekeimten Samen und dividiert die Summe der erhaltenen Produkte durch die Gesamtzahl der gekeimten Samen, so erhält man die „mittlere Keimzeit" in Tagen.

[2]) Nach A. Zöbl in Wissenschaftlich-praktische Untersuchungen usw.

Quellzeit

11		13		18		23		28		39		49		59		69	
% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit	% gek. Samen	Keim-zeit
74	1,43	72	1,11	36	1,66	2	5,00	14	2,71	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	4,00	26	6,23	14	5,28	16	6,00	18	5,00	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	2	9,00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	6,75	24	6,58	20	6,20	4	8,00	4	7,00	—	—	—	—	—	—	—	—
32	1,56	16	7,75	—	—	2	8,00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
54	11,13	66	6,39	32	8,56	18	16,00	16	9,75	18	14,88	6	7,00	4	4,00	—	—
86	6,97	84	5,62	76	4,68	78	5,02	48	6,87	72	6,27	46	5,04	6	7,33	—	—
8	12,25	6	10,33	2	7,00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28	3,57	22	4,00	20	5,60	32	6,81	14	3,85	—	—	—	—	—	—	—	—
94	3,49	80	3,85	78	4,15	68	5,58	70	4,37	26	6,15	24	7,29	16	3,12	—	—
52	2,77	52	2,54	20	4,20	24	4,66	24	2,83	36	7,00	—	—	—	—	—	—
74	1,43	80	1,92	86	2,25	76	2,76	68	2,39	52	3,84	22	4,09	16	4,00	—	—
4	23,00	4	18,00	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
86	3,34	66	5,45	88	5,82	62	5,51	16	4,15	—	—	—	—	—	—	—	—
72	3,28	60	2,13	56	3,39	32	2,87	4	6,00	—	—	—	—	—	—	—	—
90	3,39	76	6,23	56	4,28	10	4,40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	4,00	8	4,00	8	4,00	24	5,66	12	6,33	—	—	—	—	—	—	—	—
54	2,41	54	2,22	52	2,42	12	2,83	—	—	—	—	4	4,00	—	—	—	—
62	1,81	64	2,12	38	4,44	22	3,91	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
92	6,5	72	7,27	50	7,48	52	8,04	73	7,38	32	8,5	14	11,00	22	8,66	—	—
32	8,25	36	7,00	12	8,00	8	6,00	20	9,80	16	8,5	—	—	—	—	—	—
59	6,12	42	5,43	24	5,58	20	9,01	18	6,44	14	7,14	8	12,25	—	—	—	—
80	5,75	64	9,18	88	4,00	80	6,00	86	8,14	72	5,84	64	5,75	84	4,24	40	6,20
26	17,76	34	41,41	10	10,00	46	6,91	127	8,09	16	11,00	—	—	—	—	—	—
26	9,61	14	11,43	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Wasser bei Mais 4,34 %, bei Gerste 3,26 % nach fünf und 26,04 % bzw. 19,44 % nach 30 Tagen. Bei Weizen hat die Keimfähigkeit ihre Grenze überschritten, wenn das aufgenommene Wasser 50 %, bei Mais 35 %, bei Roggen 75 %, bei Rispenhirse 20 % vom Samengewicht beträgt; von dieser Grenze an nimmt die Keimfähigkeit rapid ab. Für Mais und Gerste wurde auch der Betrag der einzelnen Bestandteile festgestellt, welche durch langdauernde Quellung ausgelaugt worden waren:

100 Teile der lufttrockenen Substanz enthalten	Mais Proz. der lufttr. normalen Substanz	Mais ausgelaugt		Gerste Proz. der lufttr. Substanz	Gerste ausgelaugt	
		Proz. der lufttr. Substanz	Proz. ber. a. d. urspr. Substanz		Proz. der lufttr. Substanz	Proz. ber. a. d. urspr. Substanz
Wasser	11,48	11,30	—	11,52	10,06	—
Ätherextrakt (Fett)	4,08	4,14	2,9	1,63	2,70	2,0
Proteinsubstanz	9,23	9,37	6,58	10,22	10,38	7,70
Stärke- und stickstofffreie Extraktivstoffe	72,65	73,28	51,44	70,28	69,51	51,58
Rohfaser	1,34	1,32	0,91	3,73	5,42	4,02
Reinasche	1,19	0,57	0,4	1,88	1,00	0,74
Kieselsäure	0,03	0,02	0,014	0,74	0,93	0,69
Phosphorsäure	0,57	0,31	0,22	0,92	0,62	0,46
Kali	0,41	0,05	0,035	0,61	0,07	0,052
Magnesia	0,19	0,1	0,05	0,21	0,14	0,104
Kalk	0,01	0,09	0,063	0,05	0,12	0,089

Vom Kali war also in den ausgelaugten Körnern nicht ganz der zehnte Teil des ursprünglichen Gehaltes, von der Phosphorsäure und Magnesia weniger als die Hälfte geblieben, dagegen ist die Kieselsäure

nur wenig verändert, der Kalkgehalt durch Aufnahme aus dem Wasser sogar etwas erhöht. Die dichtere Spelzenhülle des Gerstenkornes schützt dasselbe gegenüber dem Mais vor allzustarker Auslaugung, wie ja Spelzen und harte Testa oder Schale einen weitgehenden Schutz gewähren. Untersuchungen an Leguminosensamen ergaben, daß quellungsunfähige Samen absolut leichter, spezifisch schwerer und daher kleiner sind als die leicht quellungsfähigen; ferner sind erstere meist dunkler gefärbt und unvollkommener ausgebildet als letztere. 400 Samen von Lupinus perennis wogen 6,28 g, 400 nach 6 Tagen noch nicht gequollene derselben Sorte nur 5,99 g, das spezifische Gewicht der ersteren ist 1,168, das der letzteren 1,23, das Volumen dieser Körner verhält sich wie 1,1 : 1, was schon mit freiem Auge unterschieden werden kann; ähnliches gilt auch für Luzerne und Rotklee, die leicht quellungsfähigen enthalten 2,998 % Asche, davon 3,533 % Kieselsäure, die schwer quellungsfähigen 3,601 % Asche, davon 5,83 % SiO_2.

Zur äußeren Beurteilung der Keimfähigkeit ist besonders die Beobachtung der Beschaffenheit des Embryos geeignet. Man geht in der Weise vor, daß man an der endospermfreien Seite mit dem Skalpell vorsichtig Frucht- und Samenschale entfernt, mit dem Rasiermesser einen zur Längsachse des Embryos schrägen Schnitt durch die Mitte desselben führt und ihn unter der Lupe betrachtet. Vor allem ist die Farbe des Embryos, die sich unter dem Einflusse äußerer oder innerer Anomalien leicht ändert, sehr charakteristisch. Die Abweichung von der normalen Farbe ist umso deutlicher zu erkennen, je dunkler diese ist, je länger der Keim seine Lebenskraft verloren, je schädlicheren Einflüssen er ausgesetzt gewesen war. Ferner läßt das Verhältnis der Embryogröße zu der des übrigen Samenteils, sofern Endosperm vorhanden, die Stärke der Wurzelbildung sowie die der Knospen etwaige Beschädigung durch Insekten und das Auswachsen erkennen. Auf diese Weise ist es möglich, sich in kürzerer Zeit und mühelos ein Urteil über die Qualität des zu verwendenden Samens zu bilden. Bei derselben Samenart ist die Farbe des Embryo für alle Varietäten charakteristisch, aber jeder Samenart ist eine nur ihr eigene, charakteristische Farbe gegeben; die normale Farbe des Embryos der Getreidearten ist gelb gemischt mit grün und durch Vorherrschen der einen oder anderen Farbe unterscheiden sich die einzelnen Getreidearten voneinander, der Gerstenembryo hat eine grünlichgelbe bis wachsgelbgrünliche Farbe, der Weizen zeigt sie viel deutlicher, Roggen wechselt dieselbe bis erdwachsgelbgrün, Mais ist weißgelb, selten grünlich, Raps hat einen bläulichweißen Embryo (Kotyledonen grünlichgelb), Hanf einen weißen, Runkelrübensamen einen bläulichweißen usw. Durch atmosphärische Einflüsse wird eine Zersetzung des Keimes veranlaßt, welche sich durch Mißfärbung, durch dunklere, bläuliche, bräunliche, gelbbräunliche, braune, rötliche, sogar schwarzblaue Farbe kennzeichnet, eine Verfärbung, die eine Keimunfähigkeit des Samens anzeigt, auch wenn er äußerlich noch so schön aussieht; dagegen sagt das Aussehen der Testa nichts über den Zustand des Keimes aus, blaue und schwarze Gersten haben dieselbe Keimfarbe wie die lichten. Der Schnitt muß sehr glatt und darf nicht über die Mitte des Embryos hinausgeführt werden; die Verderbnis des Keimes beginnt immer zu unterst vom Wurzelende, so daß die Knospe noch normal gefärbt sein kann, wenn die Wurzel bereits geschädigt ist. Man führt den Schnitt von der Knospe gegen die Wurzel und stellt das Korn bei auffallendem hellen Tageslicht auf eine schwarze Unterlage gegen das Fenster, so daß die ganze Schnittfläche

gleich gut beleuchtet erscheint. Ist die Farbe nicht gut zu unterscheiden, so kann man die Querschnitte mit Schwefelsäure (sp. G. 1,59) betupfen, bei Getreidekörnern färben sich dann gesunde, gut keimfähige Embryonen intensiv gelb, nach 2—5 Minuten rosenrot, welche Farbe mehrere Stunden erhalten bleibt; der geschwächte Keim zeigt diese intensive anfängliche Gelbfärbung nicht, sondern eine dunkelgelbe, die erst nach längerer Zeit in Rot übergeht; gesunde Keime werden durch Schwefelsäure erst nach 30—60 Minuten zum Quellen gebracht, geschwächte oder tote bedeutend früher; verdorbene färben sich schließlich mit der Säure braun oder werden ganz farblos.

Eine wichtige Frage besteht ferner darin, *wie lange Samen ihre Keimungsfähigkeit zu bewahren vermögen*, wie lange also der Samen im latenten Leben verharren kann; die Berichte, daß Getreidekörner aus Mumiengräbern Keimkraft zeigten, haben sich als unrichtig erwiesen. Durch Versuche von F. Haberlandt[1]) hat sich gezeigt, daß sorgfältig trocken aufbewahrte Samen immerhin eine Reihe von Jahren ihre Keimkraft beibehalten können, besonders dann, wenn sie luftdicht verschlossen gewesen waren; bei lufttrocken aufbewahrten Getreidearten macht sich aber doch schon im vierten Jahre eine Abnahme der Keimfähigkeit bemerkbar, während eine solche bei Körnern, die vor der Aufbewahrung künstlich getrocknet worden waren, sich erst im achten Jahre einstellte.

Samenart	12 Jahre		11 Jahre		10 Jahre		9 Jahre		7 Jahre		6 Jahre		5 Jahre	
	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage	Proz. gek. Samen	Keimdauer Tage
Rispenhirse	—	—	23	4,7	0	0	34	3,4	16	3,2	4	5,5	—	0
Lauch . .	—	—	0	0	0	0	—	—	1	2,0	—	—	1	3,
Hanf . .	—	—	15	2,4	8	2,2	2	2,0	4	1,7	5	1,5	42	3,7
Buchweizen	—	—	0	0	—	—	6	5,0	1	6,0	4	4,7	9	3,1
Spinat . .	—	—	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—	0	0
Runkelrübe	56	7.7	0	0	2	5	88	6,0	6	2,0	90	4,2	100	4,6
Gartensalat	—	—	0	0	0	0	0	0	1	5,0	0	0	8	4,2
Sonnenblume .	—	—	0	0	0	0	15	3,8	68	2,5	0	0	98	1,8
Kürbis .	—	—	0	0	0	0	8	6,2	0	0	26	6,2	88	5,0
Gurke . .	—	—	0	0	—	—	34	4,1	43	3,0	68	2,0	100	1,8
Melone .	—	—	93	2,6	—	4,2	88	2,1	100	2,0	91	2,1	83	2,2
Paradiesapfel .	—	—	26	14,0	18	13,1	71	5,8	67	9,7	58	5,2	62	5,6
Tabak . .	—	—	30	9,1	—	.	—	—	72	8,0	0	0	69	5,7
Raps . .	—	—	—	—	—	—	0	0	3	2,8	6	2,0	0	0
Senf . .	—	—	19	4,3	4	3,0	—	—	—	—	—	—	39	2,3
Mohn . .	—	—	0	0	0	0	0	0	1	5,0	0	0	49	3,5
Lein . . .	—	—	18	4,1	0	0	0	0	77	2,5	61	3,1	60	3,0
Möhre . .	—	—	0	0	0	0	—	—	8	17,2	26	7,1	40	10,1
Kümmel .	—	—	0	0	40	0	—	—	—	—	—	—	—	2
Luzerne .	—	—	34	2,8	45	2,1	0	0	73	2,0	—	—	—	—
Fisole . .	—	—	26	6,0	0	0	16	5,7	22	4,4	46	3,1	86	3,2

Am meisten beeinträchtigt wurde die Keimfähigkeit durch die längere Dauer der Aufbewahrung bei Lauch, Spinat, Gartensalat, Raps, Kümmel,

[1]) F. Haberlandt, Der allgemeine andwirtschaftliche Pflanzenbau, Wien 1879.

Möhre, weniger bei Rispenhirse, Hanf, Runkelrübe, Kürbis, Gurke, Melone, Sonnenblume, Paradiesapfel, Tabak, Senf, Lein, Luzerne, Fisole, am wenigsten bei Runkelrübe, Melone, Luzerne, Paradiesapfel, Tabak. Bei der Runkelrübe keimten nach 12 Jahren noch 56 %, bei Melone nach 11 Jahren noch 93 %, bei Paradiesapfel 26 %, Tabak 30 %, Rispenhirse 23 %, Luzerne 34 %, Fisole 26 %, Senf 23 %, Hanf 15 %. Der Mais behält seine Keimfähigkeit viel länger, wenn er am Kolben belassen, gut getrocknet und am Boden in nicht zu dichter Lage aufgeschichtet wird, als wenn man die Körner vom Kolben ablöst oder die Maiskolben aufhängt.

Während die Samen höhere Wärmegrade trockener Luft lange Zeit ohne nennenswerten Schaden auszuhalten vermögen, sind sie in feuchter Luft schon gegen geringe Temperaturerhöhung sehr empfindlich. Wasserdämpfen von 75 ° C ausgesetzt, verlieren nach 15 Minuten die Samen von Hülsenfrüchten und Getreide ihre Keimfähigkeit, noch rascher werden die Samen durch heißes Wasser getötet, wenn es in ihr Inneres einzudringen vermag, während Samen, welche, wie die von manchen Medicagoarten, in kochendem Wasser nicht aufquellen, dadurch nicht geschädigt werden. Nobbe fand, daß die Schließfrüchte von Polygonum orientale nach halbstündigem Kochen in Wasser nicht gequollen und keimfähig wie zuvor waren, aber auch andere Samen, deren Hüllen schwer durchlässig sind, verhalten sich kochendem Wasser gegenüber sehr resistent, so die von Labiaten, Papilionaceen, Rosaceen, Liliaceen usw., dagegen verlieren die meisten Getreidekörner schon bei längerem Liegen in Wasser von 35 ° C ihre Keimfähigkeit. Nicht alle Samen sind gleich empfindlich, am meisten leiden Gerste, Buchweizen, Sonnenblume, Erbse, am wenigsten Mais, Raps, Rotklee, Lein, Weizen. Bei 50 ° C warmem Wasser, bei einer Temperatur, welche das Maximum der Keimungstemperaturen überschreitet, ist die Beeinträchtigung der Keimfähigkeit schon sehr merkbar, bei zehnstündiger Einwirkung nasser Wärme auf die Samen, die vorher nicht gequellt waren, behielten nur die resistentesten ihre Keimfähigkeit zum geringen Teil, bei den vorher durch 24 Stunden angequellten erwies sie sich als völlig erloschen. Auch die Zeitdauer für die Keimung wurde dadurch ungewöhnlich in die Länge gezogen, denn während die Kontrollgerste schon nach 2,72 Tagen im Mittel keimte, geschah dies nach 5 stündiger Erwärmung in 30 grädigem Wasser erst nach 3,07, bei fünfstündiger Einwirkung 40 grädigen Wassers erst nach 3,8 Tagen. Raps keimte in den Versuchen Haberlandts, denen auch die nachstehende Tabelle entnommen ist, normalerweise nach 2,47 Tagen; nach zehnstündigem Einquellen in 50 ° C warmem Wasser erst nach 10,5 Tagen. Auch hier ist eine Vorquellung für eine Verstärkung der Schädigung maßgebend.

Eine andere Frage ist es, welche Wärmegrade trockener Natur lufttrockene Samen aushalten. Haberlandt stellte fest, daß bei 48 stündiger Erhitzung auf 100 ° C nur 12 Samenarten ihre Keimfähigkeit völlig einbüßten [geprüft wurden Gramineen (28 Arten), Liliaceen (3), Chenopodiaceen (2), Polygoneen (1), Urticaceen (1), Kompositen (4), Labiaten (1), Ranunculaceen (1), Solaneen (2), Rubiaceen (1), Koniferen (8), Papaveraceen (1), Lineen (1), Umbelliferen (7), Cucurbitaceen (4), Sanguisorbeen (1), Papilionaceen (18)[1])], nämlich Asparagus officinalis,

[1]) E. Haberlandt, Über den Einfluß einer höheren Temperatur auf die Keimfähigkeit der Samen unserer Kulturpflanzen. Allgem. land- u. forstwirtsch. Zeit. I., 389 (1863).

	Kontrolle	Ohne vorhergehende Einquellung								Nach vorausgegangener 24 stünd. Einquellung							
		5 stünd. Wirkg.				10 stünd. Wirkg.				5 stünd. Wirkg.				10 stünd. Wirkg.			
		30°	40°	50°	55°	30°	40°	50°	55°	30°	40°	50°	55°	30°	40°	50°	55°
		Von je hundert Samen keimten															
Weizen	98	96	88	60	—	97	90	1	—	96	80	22	—	90	44	—	—
Roggen	94	88	60	48	—	72	58	—	—	78	40	—	—	50	20	—	—
Gerste	98	58	5	—	—	36	1	—	—	16	—	—	—	8	—	—	—
Hafer	100	88	36	8	—	76	18	—	—	82	24	—	—	67	3	—	—
Mais	95	98	100	94	8	100	100	38	—	98	100	58	4	100	98	10	—
Rispenhirse	100	75	65	27	—	68	45	29	—	66	57	12	—	51	41	—	—
Moorhirse	68	70	58	25	6	59	33	18	—	67	62	2	—	36	24	2	—
Mohn	91	—	—	21	—	45	39	3	—	—	—	1	—	40	30	—	—
Hanf	95	—	—	35	—	58	46	37	—	—	—	33	—	42	41	30	—
Buchweizen	79	—	—	3	—	24	16	2	—	—	—	—	—	23	—	—	—
Runkelrübe	76	—	—	31	9	59	38	22	1	—	—	19	—	41	32	18	—
Sonnenblume	78	—	—	14	—	38	22	6	—	—	—	—	—	30	20	—	—
Zuckermelone	100	—	—	46	22	66	54	42	—	—	—	26	—	64	60	12	—
Raps	99	—	—	43	—	69	49	39	—	—	—	3	—	65	43	2	—
Kopfkohl	98	—	—	56	—	64	56	40	—	—	—	—	—	58	39	—	—
Lein	92	—	—	16	—	82	66	10	—	—	—	—	—	56	40	—	—
Rotklee	100	—	—	28	10	92	68	14	2	—	—	18	—	88	50	6	—
Luzerne	84	—	—	34	3	63	53	8	—	—	—	8	—	41	44	—	—
Fisole	100	—	—	2	—	96	88	—	—	—	—	—	—	72	10	—	—
Erbse	91	—	—	1	—	48	44	—	—	—	—	—	—	36	5	—	—

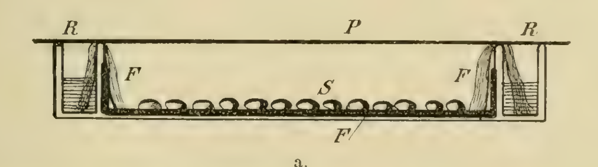
Allium Porrum, Spinacia oleracea, Lactuca sativa, Apium graveolens, Pimpinella Anisum, Cucumis Melo, Pisum sativum, Phaseolus vulgaris 2 Variet., Ph. coccineus und Allium sativum. Eine teilweise Vernichtung der Keimfähigkeit trat ein bei Zea Mais, Panicum germanicum, P. miliaceum, Anethum graveolens, Foeniculum vulgare, Daucus Carota, Carum Carvi, Papaver somniferum, Camelina sativa, Cucurbita Pepo, Sanguisorba officinalis, Trifolium pratense, die zu 10—25 % keimten. Alle übrigen 69 Arten keimten vollständig, 7 davon mit starker Verspätung (3 Var. von Mais, Panic. germ., Helianthus annuus, Papav. somnif., Petrosselinum sat.), 46 mit geringer, 9 ganz ohne Retardation der Keimung, Alopecurus pratensis und Medicago lupulina sogar mit einer kleinen Verfrühung. Bei Erwärmung auf 87,5 ° C durch 48 Stunden wurden nur Phaseolus vulg. und Cucumis Melo gänzlich getötet, 34 Arten zeigten sich in der Keimung um ½—3 Tage (Lactuca sat. um 5½, Petros. sat. um 8 Tage) verspätet, 9 Arten keimten normal, bei 35 Arten trat eine ½—3 tägige Verfrühung der Keimung ein; eine Erwärmung auf 56 bis 75 ° C. durch 48 Stunden ließ die Keimung bei allen normal oder verfrüht eintreten. *Vorsichtige und allmähliche* Erwärmung der lufttrockenen Samen auf 56—87,5 ° C hat im allgemeinen eine Verkürzung der Keimdauer zur Folge. Nach Höhnel vertragen die meisten Samen eine einstündige Erwärmung auf 110 ° C, wenn sie höchstens 3 % Wassergehalt besitzen und ihre Keimkraft nicht schon vorher oder durch die Trockenoperation geschwächt ist; die Maximaltemperatur, bis zu welcher Samen mindestens 15 Minuten ausgesetzt werden dürfen, liegt bei 110—125 ° C, für jedes Samenindividuum gilt aber ein anderer Grenzwert; ein solcher ist also für eine ganze Samenart oder gar alle Arten nicht anzugeben; jene Individuen, welche auch unter normalen Verhältnissen die längste Keimungsdauer haben, sind gegen alle Veränderungen der Umgebung und daher auch gegen Temperaturerhöhung am wenigsten resistent. Ganz ebenso wie gegen extrem hohe Tempera-

turen, so sind Samen auch gegen extrem niedere Temperaturen um so empfindlicher, je wasserreicher sie sind, mit sinkendem Wassergehalt wächst ihre Widerstandskraft gegen Frost. Nach Göppert halten lufttrockene Samen ohne jede Schädigung eine Temperatur von — 40 ° C aus, während gequollene Samen dadurch getötet wurden. Detmer konstatierte aber, daß die Keimteile der aus äußerlich unbeschädigten Weizenkörnern erzogenen Pflanzen, deren Körner im lufttrockenen Zustande dem Frost ausgesetzt gewesen waren, erheblich geringere Entwicklungsfähigkeit aufwiesen als normale Körner. Das gilt nur für die Erbse nicht. Auch beim Abkühlen ist langsame Erniedrigung der Temperatur und langsames Auftauen schädlicher als plötzliches, ganz ähnlich beim Erwärmen. Bei angequollenen, der Abkühlung ausgesetzt gewesenen Körnern verhält es sich aber umgekehrt. So fand nach Detmer folgendes statt:

	Gekeimt von den		
	nicht gefrorenen Körnern %	gefrorenen, langsam aufgetauten %	gefrorenen, plötzlich aufgetauten %
Weizen	100	86	18
Roggen	97	88	35
Raps	100	97	66,5

Raps wie alle ölreichen Samen leiden weniger unter der Kälte, weil sie in ihrem flüssigen Reservematerial eine „thermisch aktive“ (Mez) Lösung besitzen. Nach 24 stündiger Einwirkung einer Temperatur von — 10 ° C keimen angequollene Leinsamen nach F. Haberlandt bei raschem Auftauen zu 83 %, bei langsamer Erwärmung zu 79 %. Gequollene Leinsamen keimten nach Abkühlung auf — 24° C bei schnellem Auftauen noch zu 20 %, bei langsamem nur zu 1 %. In manchen Fällen ist aber das Einfrieren der Keimung nicht nur nicht hinderlich, sondern dafür ebenso bestimmend wie in anderen Fällen das Licht, ja diese beiden Faktoren können sich in ihrer Wirkung summieren. Über Frostkeimung verdanken wir namentlich W. Kinzel wertvolle Untersuchungen. So wurde bei Samen von Narthecium ein Keimen beobachtet, nachdem die Samenprobe 4 Jahre im Eise gelegen hatte; die Samen keimten 1—2 Monate nach dem Auftauen des Eises. Bei den Obstkernen ist es lange bekannt, daß ein Durchfrieren der Samen nicht nur das prozentische Auflaufen der Kerne steigert, sondern auch im weiteren Verlaufe viel kräftigere Pflanzen liefert; ähnliche Erfahrungen liegen für Winterroggen vor. Durch die Kälte werden ruhende Reserven mobilisiert und dadurch nicht nur ein Überschuß von Baustoffen geschaffen, sondern die intensiv wachsenden kräftigen Pflanzen scheiden auch größere Quantitäten von Schutzstoffen aus, welche sie z. B. Pilzinfektionen gegenüber widerstandsfähiger machen. Namentlich ungenügend durchgefrorene Samen alpiner, also an Kälte angepaßter Pflanzen können, frostfrei gelagert, jahrelang feucht liegen, ohne zu keimen; deshalb müssen Samen von Aretia vitaliana, Androsace Wulffenianum, Aconitum Napellus u. a. genügend lange in Eis oder in gefrorenem feuchten Erdreich bei entsprechend tiefen Temperaturen eingeschlossen sein, um nach dem Auftauen des Eises zu keimen. Bei Stachys silvaticus, Teucrium Chamaedrys, Anthericum ramosum, bei einzelnen Enzianarten wirkt außer Belichtung auch eine Temperaturerniedrigung bis zu + 2 ° C oder Lagern der trockenen Samen im Froste keimungsbefördernd. Die Saat von Gen-

tiana acaulis und G. germanica, die einen Winter lang trocken durchgefroren gelegen hatte, konnte in den folgenden Jahren erst durch einen Anstoß von + 2 ° C zum größten Teil zur Keimung gebracht werden, während nicht durchfrorene Samenproben auf diesen Kälteanstoß nicht reagierten, sondern die volle Wirkung von — 5 ° bis — 10 ° C durch längere Zeit zu ihrer späteren völligen Keimung nötig hatten. Bei Clematis Vitalba mußte nach zweijährigem feuchten Lagern bei 20 ° außer einem Temperaturanstoß von + 5 ° noch Lichtwirkung zum Ermöglichen der Keimung dazutreten; in der Natur genügt das Verbleiben der Samen an der Rebe den Winter hindurch, also trockenes Durchfrieren, um die Samen der Waldrebe zu 100 % leicht keimfähig zu machen.



a.



b.

Fig. 1. Keimschale nach Molisch.

a) Querschnitt. Die Schale aus außen glasiertem Thon besitzt in *R* eine Doppelwand ringsum, in der konstant Wasser steht; das Filterpapier *F*, auf welchem auch die Samen *S* liegen, saugt kapillar Wasser an, so daß die Samen feucht liegen, ohne doch ertränkt zu werden. Die Glasplatte *P* bedeckt die Schale.

b) In der doppelwandigen Keimschale zum Keimen ausgelegte Samen.

Die Samen keimen dann z. T. gleich aus, aber nur bei Belichtung, während zur Keimung im Dunkeln stärkere vorhergehende Kälteeinwirkung auf die im Eis eingeschlossenen Samen nötig ist. Auch hier gibt es natürlich eine untere Temperaturgrenze, bei welcher die Keimung infolge Schädigung oder Tötung des Samens verzögert ist oder unterbleibt, die Temperaturerniedrigung muß ausdauernd und nicht zu stark sein. Menyanthes keimte, in Eis bis zu — 5 ° eine Woche lang eingeschlossen, in einem halben Monat zu 100 % aus, eine 20 Tage währende Behandlung im Eisschrank brachte wohl in der Folge auch noch 94 % der Samen zur Keimung, jedoch erst drei Monate nach Aufhören der Kältewirkung. Umgekehrt sind die Samen tropischer Gewächse gegen geringe Wärme-

grade außerordentlich empfindlich. Eine Begünstigung der Keimfähigkeit durch eine vorausgegangene Kälteperiode, welche die Samen durchgemacht hatten, konnte bei sehr vielen Samenarten unter Mitwirkung oder ohne Mitwirkung des Lichtes beobachtet werden, eine Erscheinung, die ihr Analogon in dem freudigeren Treiben unserer Obstbäume nach Kälteeinwirkung besitzt und auf die wir noch bei Besprechung des Frühtreibens zurückkommen.

Die angequollenen Samen werden nun zum Keimen ausgelegt: das geschieht in *glasierten Tonschalen, welche mit benetztem Fließpapier* ausgekleidet und mit wassergetränktem Fließpapier bedeckt sind (Fig. 1). Zweckmäßig schneidet man in das kreisrunde und größer als die Schale gelegte Papier, nachdem es gefaltet wurde, Franzen. Es läßt sich nun nach dem Wiederauffalten der Schale glatt anlegen. Die Samen werden dann auf dem mit der Gießkanne benetzten Papiere ausgelegt und da locker mit einem gleichfalls durchnäßten Papier bedeckt. Die Durchtränkung des Papiers darf keine allzu reichliche sein, da sonst allzu schnell Pilzinvasion erfolgen kann; besser ist es, das Besprengen in mehrstündigen Intervallen zu wiederholen; aber eine sorgsame Feuchterhaltung der Samen ist unbedingt notwendig, da bei dem großen Wasserverbrauch für die Reservestoffmobilisierung eine Austrocknung erfolgen könnte, wodurch die Wurzeln wohl lang, aber fadendünn und weich werden, ein Wasseretiolement sich einstellt.

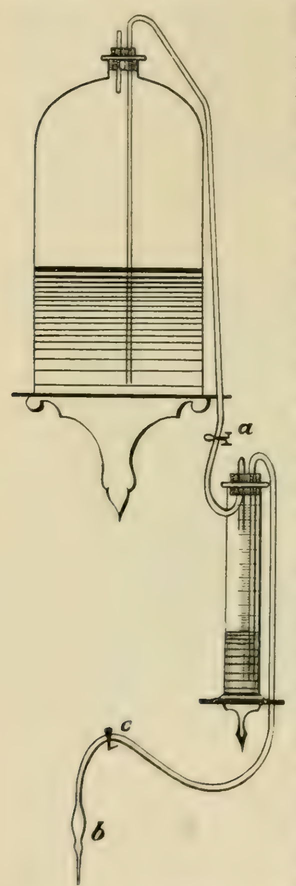


Fig. 2. Keimapparat nach Nobbe.

Einen einfachen *Apparat zur quantitativen Befeuchtung des Keimbettes* verdanken wir F. Nobbe[1]) (Fig. 2). Dient Fließpapier als Keimbett und bringt man in eine Porzellanschale von 20 cm Länge, 14 cm Breite und 3 cm Höhe je zwei doppelt zusammengefaltete Keimbetten, welche aus je einem Papierstück von 14,5 cm Breite und 39 cm Länge hergestellt sind, nebst einer doppelten Unterlage und einer gleich großen Decke von je 19,5 × 29 cm, so beträgt die gesamte Fläche Papier 4.565 = 2260 qcm. Ein Quadratmeter Drewerhoffsches Fließpapier Nr. 251 saugt im Durchschnitt ungefähr 190 ccm Wasser auf; auf 2260 qcm entfallen mithin etwa 43 ccm und mit 80 % davon, d. i. mit 36 ccm ist das in jeder Schale vereinigte Fließpapier vor Einbringen der Samen zu benetzen. Das Gewicht der Samen selbst und ihre Aufsaugungskraft ist hierbei nicht berücksichtigt; dasselbe kann bei kleinen Klee- und Grassamen vernachlässigt werden, denn 200 Kleesamen wiegen 0,3—0,4 g und nehmen beim Quellen ungefähr ihr eigenes Gewicht an Wasser auf. Für größere Samen genügt es, das Gewicht der zuzusetzenden Wassermenge um das Gewicht der Samen zu vermehren. Würde nun die Schale

[1]) F. Nobbe, Ein einfacher Apparat zur quantitativen Befruchtung der Keimbetten bei Samenprüfungen Landw. Vers.-Stat. 55, 389 (1901).

samt ihrem frisch befeuchteten Inhalt nach der Beschickung gewogen, so läßt sich der während der Keimung eintretende Wasserverlust durch periodische Nachwägungen kontrollieren und ersetzen. Der Verlust ist in der Decke am größten, weit geringer im Keimbett selbst und der Unterlage, die Samen selbst trocknen am spätesten aus; gewöhnlich genügt also ein Besprengen der Decke mit der erforderlichen Ersatzmenge, aber man wird sich freilich immer überzeugen müssen, ob nicht doch Samen und Unterlage der Befeuchtung bedürfen. Zum quantitativen Nachfüllen des Besprengungswassers bedient man sich einer großen, erhöht aufgestellten, mit Wasser gefüllten Flasche, die durch einen Gummischlauch *a* mit einem in Gesichtshöhe befindlichen Meßzylinder verbunden ist, aus welchem ein zweiter, in ein fein ausgezogenes Glasröhrchen *b* endigender Gummischlauch *c* die Benetzung vermittelt. Nach jeweiliger Entleerung des Meßzylinders wird derselbe durch Öffnen des Quetschhahnes wieder gefüllt, der den Flasche und Meßzylinder verbindenden Schlauch verschließt. Am Ende des unteren, aus dem Meßzylinder führenden Gummischlauches, unmittelbar oberhalb des Glasröhrchens, ist eine Glasperle eingeschoben, welche den Schlauch verschließt und bei einem auf sie ausgeübten Druck und bei seitlicher Zerrung des Gummis gleichmäßigeren Ausfluß verbürgt als ein Quetschhahn.

Einen auf dem Nobbeschen Prinzip fußenden *Apparat für Keimkraftprüfungen* hat J. Simon[1]) angegeben. Er verwendet als Keimbett ziemlich grobes Fließpapier in den Dimensionen 28 × 18 cm. Die Blätter werden ein- oder mehreremal zweckmäßig in Briefform gefaltet, wodurch Keimdecken gebildet werden, die nach oben und unten gegen übermäßige Verdunstung geschützt sind. Nun bedarf der Samen je nach seiner Eigenart verschiedener Grade von Feuchtigkeit; Roggen und Weizen sind etwas trockener zu halten als Gerste und Hafer, Serradella braucht zum Keimen viel Wasser, Poa muß direkt naß liegen usf., aber in den meisten Fällen ist ein Feuchtigkeitsgehalt von 60—65—70 % im Keimbett der optimale. Beim ersten Anfeuchten geht man wegen der Verdunstung etwas über dieses Maximum hinaus und hält beim nachfolgenden Anfeuchten die genannten Grenzen ein. Destilliertes Wasser soll nicht angewendet werden, am besten ist Brunnen- oder Leitungswasser, welches jedoch erst Verwendung finden darf, nachdem es Zimmertemperatur angenommen hat; der Zusatz kleiner Mengen von Salzen, besonders Kalinitrat und Kalziumnitrat, zum Wasser ist ebenfalls zu empfehlen. Auf eine Fließpapiergröße von 28 × 18 cm stellt sich nach den obigen Verhältnissen die zu gebende Wassermenge auf 7,5 ccm, für 100 g Quarzsand als Keimbett 17,3 ccm. Der Simonsche *Apparat, welcher zum genauen and wiederholten Abmessen dieser Wassermengen* dient, stellt eine Vereinigung mehrerer Meßbüretten verschiedener Teilgrößen vor (Fig. 3). Bei den drei letzten fassen die bauchig oder kugelförmig erweiterten Teilstücke jeweils bis zu den rot markierten Teilstrichen die auf den ersteren ebenfalls deutlich mit roter Schrift angegebenen Wassermengen (bei 15 °C), welche den zur Befeuchtung von Fließpapier- oder Sandkeimmedien benötigten Quantitäten entsprechen. Die erste Bürette dient zum genauen Abmessen kleiner oder größerer Mengen von 5—250 ccm. Die vier Büretten können unterhalb des unteren Teil-

[1]) J. Simon, Neue Apparate zum Gebrauch bei Keimkraftprüfungen in der Samenkontrolle., Landw. Vers.-Stat. 71, 431 (1909).

striches jede für sich durch einen eingeschliffenen Glashahn verschlossen werden und stehen durch Gummiverbindungsstücke mit einem Glasrohre in Verbindung, das 5 Ansätze besitzt und an der einen Seite rechtwinklig nach aufwärts gebogen ist, wodurch der Zufluß aus einem höher stehenden Vorratsgefäß für Wasser vermittelt wird. Ein Glashahn an diesem Zulaufrohr oder am Wassergefäß bewirkt Zufluß oder Abschluß des Wassers. Ein Ansatzstück in der Mitte des Glasrohres trägt einen Gummischlauch, der in ein zu feiner Spitze ausgezogenes Glasrohr endigt, das zur Wasserentnahme oder zum Besprengen des Keimmediums dient. Eine vor der Spitzenmündung liegende Glasperle gestattet auch hier eine Regulierung des Wasserstromes. Die vier Büretten endigen in eine mit Glaskappen bedeckte Spitze. Wenn alle Glashähne geöffnet sind, dringt in alle das Wasser und füllt sie; sind alle Büretten oder die, welche man benutzen will (der Überschuß fließt durch ein seitliches Ansatzrohr ab, so daß die Spitze der Bürette gleichzeitig den obersten Teilstrich repräsentiert) vollgelaufen, wird der Glashahn des Zuflußrohres geschlossen, der Hahn an der zu benützenden Bürette geöffnet und durch Druck auf die Glasperle die jeweils benötigte Wassermenge entnommen.

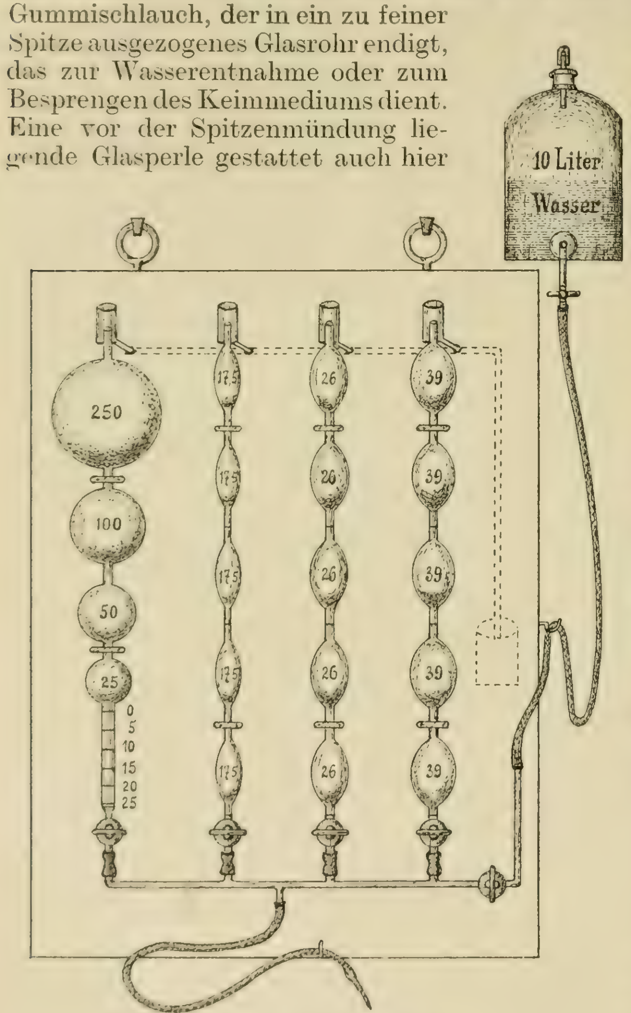


Fig. 2 Simons Keimapparat.

In interessanter Weise versuchte A. Tompa (Beih. z. Bot. Centrbl. **12**, 99 [1902]) die Erscheinungen der pflanzlichen Elektrizität in den Dienst der Keimkraftprüfung zu stellen, indem er ermittelte, daß lebendige Samen auf einseitige Oberflächenverletzung elektromotorische Kräfte auslösen, deren Potentiale über 0,005 Volt betragen. Tote Samen zeigen überhaupt kein Potential oder solche unter 0,005 Volt, in den meisten Fällen unter 0,002 Volt. Ein Laesionsstrom, dessen Potentiale 0,005 Volt, übersteigt, sei daher als ein Kriterium des Lebens im Samen zu erachten. Der Herd der elektromotorischen Erscheinungen in den lebenden, noch ungekeimten

Samen befindet sich im Keimling, denn beim Entzweibrechen eines trockenen Vicia-Samens zeigt diejenige Bruchhälfte, die den größten Teil des Keimlings enthält, die vorher im vollen Samen beobachtete Spannung unvermindert, während der abgesprengte keimlose Kotyledo gar keine elektromotorische Kraft aufweist. Die Resultate des genannten Autors wurden mittels des Kapillarelektrometers gewonnen, welches neben manchen anderen vor dem Galvanometer auch die Vorteile der direkten Messung der elektromotorischen Kräfte, ferner einen rapiden Ausschlag und momentane Rückkehr zum Nullpunkt ohne Hin- und Herpendeln bietet [1]).

Von großer Wichtigkeit ist ferner, daß die Auseinanderlagerung der Samen in nicht zu engen Distanzen erfolge, da sonst die Wurzelentwicklung sich mangelhaft gestaltet, wohl infolge des schädigenden Einflusses der eigenen Atmungskohlensäure. Einen solchen Einfluß konnte ich sehr deutlich dort wahrnehmen, wo die Keimschalen übereinander unter eine mit Wasser abgesperrte Glocke gestellt worden waren. Die Samen in der unteren Schale, welche von der herabsickernden Kohlensäure stärker betroffen waren, keimten weniger intensiv als die in der oberen Schale, die Differenz wurde aber ausgeglichen und eine überhaupt freudigere Keimung erzielt, als der Abschluß mit Kohlensäure absorbierender Kalilauge bewerkstelligt wurde. Dazu kommt noch, daß eine Verpilzung bei dichterer Aneinanderlagerung leichter eintritt, da in diesem Falle eine Übertragung der Pilzinfektion leichter von einem Samen auf den anderen erfolgt. Daß bei abgeschlossenem Keimbehältnis auch die Stoffwechselausscheidungen des Befallspilzes die Keimung der nicht direkt angegriffenen Samen ungünstig beeinflussen können, habe ich wiederholt gesehen, wie überhaupt die Samen in diesem Stadium allen Einwirkungen von außen besonders leicht zugänglich sind. Die Ausscheidungen keimender Samen sind uns noch völlig unbekannt, daß aber solche vorhanden sind und auch Individuen der gleichen Art giftig wirken können, beweist der Umstand, daß einmal benutztes Quellwasser die Anquellung anderer Samen und ihre Keimung beeinträchtigt; vielleicht handelt es sich hier um ähnliche Stoffe, wie sie auch die Bodenmüdigkeit hervorrufen. Jedenfalls zeigt sich eine zu enge Lagerung in einem Zurückbleiben des Keimungserfolges, und sowie bei Mangel an Nährstoffen sich Hungerformen herausbilden, so ist es auch bei einem Mangel an Raum und Sauerstoff der Fall; denn die Keimung ist als Periode des Wachstums vom Sauerstoff natürlich abhängig. Wenn man sehr kleine Samen ankeimen will, deren Würzelchen reichlich mit Wurzelhaaren besetzt sind, ist es nicht zweckmäßig, Filtrierpapier zur Anzucht zu benutzen, da sich die Wurzeln dem Papier so fest anschmiegen, daß sie von ihm nicht losgelöst werden können, wie ich das beim Ankeimen der Samen von Cichorium Intybus erfahren habe. Es sei noch erwähnt, daß man gut tun wird, nicht das graue, ordinäre Fließpapier, sondern das reinere schwedische für die Keimschale zu verwenden, da die Keimung unter den eventuellen Verunreinigungen der ordinären Papiersorte leiden könnte. Bei der Keimung wird Wärme entwickelt, hauptsächlich infolge der beschleunigten oxybiotischen

[1]) Auf tierphysiologischem Gebiete sind in neuerer Zeit von G. Hirth („Der elektrochemische Betrieb der Organismen“ „Der elektrische Zellturgor“ usw. München 1912, 1913) eingehende Studien über die Funktion elektrischer Prozesse im Lebensbetrieb angestellt worden.

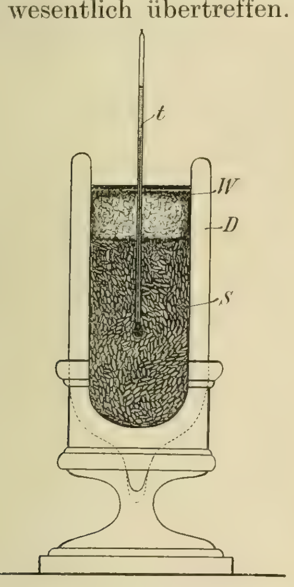
Zerstörung der Hydrolyseprodukte. Göppert[1]) brachte Samen in hölzerne Gefäße, die mit einer dichten Schicht eines wärmekonservierenden Materials umgeben waren; mitten zwischen den Samen war ein Thermometer angebracht, die Samen waren nach zwei- bis dreitägigem Anquellen in das Gefäß gebracht worden. Die Temperatur stieg 9—12 ° über Zimmertemperatur. Diese ersten Versuche über Temperaturentwicklung beim Keimen sind aber insofern nicht einwandfrei, als nicht für Verhinderung von Pilzinfektion gesorgt worden war und die Atmung der infizierenden Organismen jedenfalls bei der Wärmeentwicklung eine nicht zu unterschätzende Rolle spielt. Wiesner[2]) experimentierte mit Hanffrüchten und erzielte folgende Werte:

	Zeit	Lufttemperatur	Temperatur der keimenden Früchte	Entwickeltes CO_2 in mg
1. Juni	8 a. m.	15,0 ° C	15,0 ° C	—
	8,30 a. m.	15,0 ° „	15,2 ° „	—
	9 a. m.	15,5 ° „	15,9 ° „	—
	10 a. m.	16,1 ° „	16,8 ° „	—
	11 a. m.	16,2 ° „	17,3 ° „	—
	12 a. m.	17,4 ° „	19,6 ° „	—
	1 p. m.	17,0 ° „	19,5 ° „	1
	8 p. m.	14,8 ¹ „	15,3 ° „	5
2. Juni	8 a. m.	15,5 ° „	17,7 ° „	15
3. Juni	9 a. m.	15,3 ° „	19,9 ° „	33

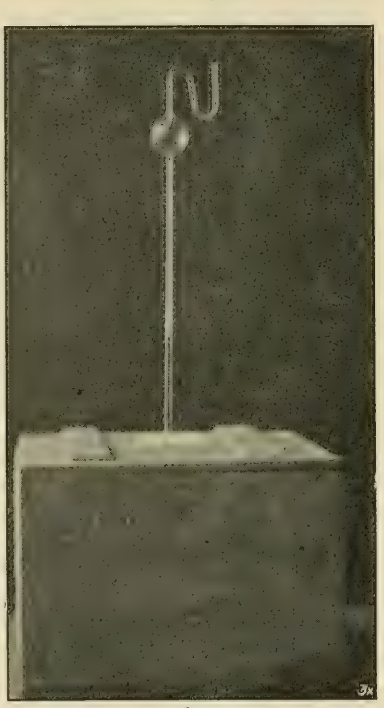
Wie man sieht, beginnt die Kohlensäureentwicklung[3]) später als die meßbare Wärmeentwicklung, ein Zeichen, daß die Wärme nicht nur physiologischen sondern zum Teil rein chemischen Vorgängen entstammt, die bei der Quellung der Stärkekörner statthaben. Dies konnte Detmer auch durch den direkten Versuch erweisen. Da die Wärmeentwicklung nicht sehr hoch ist, muß man dafür sorgen, daß die entwickelte Wärme nicht zu schnell abgeleitet werde; zunächst darf die Wassermenge, mit der die Samen befeuchtet werden, nur äußerst gering sein, ferner muß eine größere Quantität der Samen auf kleinem Raum zusammengehäuft und schließlich das Keimgefäß von wärmehaltenden Medien, Watte, Werg, Flanell usw., umgeben sein. In sehr sinnreicher Weise verwendet Molisch für diesen Zweck die *Dewarschen Gefäße mit Doppelwandungen* (Fig. 4a), deren Zwischenraum luftleer gepumpt ist und welche die Wärme so wenig leiten, daß bekanntlich flüssige Luft in ihnen längere Zeit aufbewahrt werden kann. Angequollene Samen, in solchen Gefäßen gehalten, zeigen in der Tat sehr beträchtliche Erhöhung der Temperatur über die des Versuchsraumes. Bei lebenden Blättern fand Molisch[4]) innerhalb neun Stunden eine Selbsterwärmung ohne Intervention von Mikroorganismen von 22 ° auf 43,9 ° und innerhalb 15 Stunden auf 51,5 °, also bis zu einer Temperatur, wo die meisten Blätter absterben. Molisch beschreibt einen hübschen Versuch zur Demonstration der hohen, durch den genannten Lebensprozeß erzielten Temperaturen, ein Versuch, der sich zweifellos auch mit dicht gehäuften, keimenden Samen anstellen läßt. Ein etwa 90 cm hohes Glasrohr (Fig. 4b) ist unten geschlossen, oben ballonartig aufge-

[1]) Göppert, Über Wärmeentwicklung in der lebenden Pflanze. Wien 1832.
[2]) J. Wiesner, Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. 64.
[3]) Über die „Ersten Stadien der Kohlensäureausscheidung bei quellenden Samen" hat O. Jauerka (Dissertation, Halle a. d. S. 1912) Versuche angestellt und u. a. gefunden, daß bei quellenden Samen schon sehr früh eine Steigerung der Kohlensäureproduktion beobachtet werden kann.
[4]) H. Molisch, Botan. Ztg. 1908, S. 211.

blasen und zum Teil mit gefärbtem Äther (mit Alkannin oder Cyanin) gefüllt. Bringt man die bis etwa zu einem Drittel gefüllte Glasröhre mit ihrem geschlossenen Ende in die durch Atmung selbsterwärmte Masse der keimenden Samen, so fängt der Äther zu sieden an, wodurch gleichzeitig besser als durch die Aufwärtsbewegung eines Hebels durch quellende Samen, welche Aufrichtung doch nur sehr kleine Werte erreichen kann, die Umwandlung von chemischer in mechanische Energie demonstriert ist. In analoger Weise läßt sich das Schmelzen von Kakaobutter oder Paraffin einem Auditorium demonstrieren. Übrigens lassen sich statt der immerhin kostspieligen Dewar-Gefäße nach Hempel (Ber. d. D. chem. Ges. **31**, 2994 (1899) gewöhnliche Glasgefäße verwenden, die man in reine trockene Wolle verpackt. Vergleichende Versuche ergaben, daß Wolle oder Eiderdaunen so gute Isolatoren sind, daß sie wahrscheinlich nur von den besten Dewar-Röhren darin erreicht werden, hingegen die gewöhnlichen käuflichen Röhren darin wesentlich übertreffen.



a.



b.

Fig. 4. Molischs Versuchsanstellung zur Demonstration der durch oxybiotische Prozesse entwickelten Wärmemenge. — a) Dewargefäß: S = Samen; D = luftleer gepumpte Doppelwandung; W = Wattelage; t = Thermometer. — b) Demonstration der Wäremeentwicklung mittels siedenden Äthers.

Von den äußeren **Einflüssen auf den Fortgang der Keimung** sei zunächst der des **Lichtes** behandelt. Diesbezüglich verhalten sich die Samen verschiedener Pflanzen sehr verschieden, in manchen Fällen befördert Dunkelheit den Keimungsprozeß, so bei den Scheiben- und Randfrüchten von Chrysanthemum viscosum und Chr. coronarium, während bei Pflanzen derselben Gattung, bei Chrys. seg. grandiflorum und Chrys. Myconis, die Dunkelheit verzögernd wirkt, übrigens auffallenderweise auch auf die unterirdischen Samen von Cardamine chenopodifolia. Oder es erhöht Verdunkelung nur die Keimungsenergie aller Früchte, setzt aber das Keimprozent herab, wie bei Sanvitalia procumbens und Dimorphotheca hybrida, schließlich kann die Dunkelheit auch

gewissen Früchten einer Spezies gegenüber indifferent sein, auf andere derselben Spezies dagegen beschleunigend oder verzögernd einwirken, zum Beispiel bei Chardinia xeranthemoides verzögernd auf die Scheibenfrüchte, indifferent gegen die Randfrüchte. Andererseits gibt es wieder Früchte, so die von Ximenesia encelivides usw., welche im Licht und im Dunkeln fast in gleicher Weise keimen (Becker). Durch neuere Arbeiten, vor allem von Lehmann, Kinzel, Gaßner, Baar[1]) u. a., ist die früher geltende und namentlich von Nobbe vertretene Anschauung, das Licht beeinflusse den Keimungsprozeß nicht, widerlegt. Schon die Versuche von Ingenhouß zeigten, daß die Keimungsenergie von Senfsamen durch das Licht herabgedrückt wird. Sechzig Senfsamen wurden auf eine mit feinstem Filtrierpapier überzogene Korkscheibe ausgelegt und teils im vollen, teils im gedämpften Lichte, teils unter Lichtabschluß gezogen, wobei die belichteten Samen um mehrere Tage in der Keimung zurückgehalten wurden; zu analogen Resultaten gelangte Senebier, während nach Saussure die ersten Stadien des Keimungsprozesses durch das Licht nicht beeinflußt werden sollen, eine Anschauung, die von Nobbe übernommen wurde und bis auf die neuere Zeit herrschend geblieben ist. Indessen wissen wir heute, daß ebenso wie bei einer Reihe von Samen durch das Licht die Keimung verzögert oder sogar ganz hintangehalten werden kann, in anderen Fällen das Licht zur Erzielung der normalen Keimung nicht nur förderlich sondern sogar notwendig ist. So fand W. Kinzel, daß frischgeerntete, im Keimbette belichtete Samen von Nigella sativa sich nicht allein zu 100 % keimunfähig erwiesen, sondern sogar in ihrer Keimanlage so verändert wurden, daß nachfolgende Verdunkelung während langer Zeit keine Keimung hervorrief. Die gleichen Samen keimten aber bei völliger Verdunkelung schon nach vier Tagen zu 97 % aus. Kinzel schreibt dem dunkelgelben, in Abwesenheit des Lichtes entstandenen xanthophyllähnlichen Farbstoffe eine große Rolle als „Attraktionszentrum für wandernde Kohlehydrate" und als Ernährungsvermittler zu, während die schlechte Entwicklung der Lichtkeime auf das je nach Intensität des Lichtes mehr oder weniger unvollkommene Entstehen dieses Farbstoffes zurückgeführt wird. Umgekehrt entsteht in den „Lichtsamen" von Poa schon vor dem Aufbrechen der Samen Chlorophyll, worauf hier das Lichtbedürfnis zurückzuführen sein dürfte. Die genannte Erscheinung bei Nigella bringt die vereinte Wirkung des Lichtes und einer bestimmten Temperatur zustande, indem die belichteten Samen bei 10—15 ° zwar noch wesentlich langsamer auskeimen als verdunkelte, nämlich in vier Wochen statt in vier Tagen, aber doch nicht in jenem eigenartigen Latenzzustande verharren, der bei 20 ° C unter dem Einfluß des Lichtes sich einstellt und den Kinzel als „lichthart" bezeichnet. Solche Samen können ebenso wie hartschalige viele Monate bei 20 ° feucht gelagert werden, ohne zu keimen. Erst eine vereinte Wirkung von Verwundung und Temperatur-

[1]) Lehmann, Ztschr. f. Bot. 4, 465 (1912); Ber. d. D. bot. Ges. 27, 476 (1909), 29, 577 (1911). — Kinzel, Ber. d. D. bot. Ges. 27, 536 (1909); Frost und Licht als beeinflussende Kräfte bei der Samenkeimung. Stuttgart 1913. — Gassner, Ber. d. D. bot. Ges. 28, 350 (1910), 29, 708 (1911); Jahrb. d. Hamb. wiss. Anst. 29 (1911). — Baar, Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss., Wien 121 (1912), 122 (1913). — Becker, Beih. z. Bot. Zentralbl. 29, 21 (1912). Lehmann u. Ottenwälder, Ztschr. f. Bot. 5, 337)1913). — Lehmann, Sammelreferat, Zeitschr. f. Bot. 5, 365 (1913).

erhöhung auf 30 ⁰ vermag es, solche lichtharte Samen, die schon monatelang feucht gelegen hatten, zu 76 % zum Keimen zu bringen. Das Versuchsmaterial wurde durch künstliche Belichtung unter einem abwärts brennenden Auerbrenner gehalten.

Das entgegengesetzte Verhalten zeigen die Lichtsamen von Poa pratensis, bei welchen aber ebenso wie bei den Dunkelsamen von Nigella nur ganz frische Samen so exklusiv reagieren, daß die Keimung entweder erfolgt oder gänzlich ausbleibt. Samen von Poa und Selleriesamen keimen im Dunkeln nicht. Frische Poasamen, die am Lichte bei 20 ⁰ C in zehn Tagen zu 95 % keimten, gehen im Dunkeln unter vollkommen gleichen Bedingungen (auf sterilem Filterblock in Petrischalen) bei 20 ⁰ C ebenso wie Apium graveolens nicht auf. Durch abwechselnde Belichtung und Verdunkelung läßt sich bei diesen die Durchlaufung ganz beliebiger Keimungskurven erzwingen, wobei jedoch als Nebenwirkung bei sehr häufiger und gewaltsamer Unterbrechung der Lichtkeimung die Lebensenergie der Samen so geschwächt wird, daß in der Folge erst bei viel stärkeren Lichtintensitäten Keimung erfolgt, während mehrere Monate hindurch dauernde, schwächere Beleuchtung keinen Keimungserfolg zeitigt. Allium Cepa-Samen keimen bei 20 ⁰ im Dunkeln in vier Tagen zu 75 %, im Licht nur zu 7 %, Allium ascalonicum in acht Tagen im Verhältnis 7 % im Licht zu 95 % im Dunkeln. Temperatur und Belichtung stehen überhaupt in korrelativem Verhältnis. Bei Nigella arvensis keimen im S o n n e n - l i c h t bei 20 ⁰ C 0 %, bei 20—30 ⁰ keimen 55 %, im schwachen Licht, abwechselnd verdunkelt und selten belichtet 88 %. Asphodelus ramosus keimt im Dunkeln bei 20 ⁰ zu 90 %, im Licht nur zu zirka 35 %, dagegen auch im Lichte zu 90 % bei 14 ⁰ C. Auch die einzelnen farbigen Lichtanteile stehen zur Temperatur in einem Verhältnis in bezug auf Retardierung oder Beförderung der Keimung. Das Keimungsoptimum liegt im Violett bei 20 ⁰ C mit 92 %, während dasselbe Violett bei 14 ⁰ schädigend wirkt; überhaupt scheint bei niedrigerer Temperatur die blaue, bei höherer die rote Hälfte des Spektrums stärker und dauernd zu schädigen, ein Optimum liegt für alle Temperaturen im Gelb, ein gleiches auch hinsichtlich des späteren Wachstums der Keimlinge bei 20 ⁰ C im Violett. Hellblau retardiert ebenso wie dunkles Rot kräftig bei 20 ⁰, während beide bei 14 ⁰ fast keinen Einfluß üben. L e h m a n n äußert sich in der Weise, daß er sagt, die durch Licht in der Keimung begünstigten Samen würden durch die Strahlen geringer Brechbarkeit, also Rot bis Gelb, gefördert, während für Dunkelsamen Grün bis Violett günstig ist. Dieser Satz ist aber nicht allgemein, sondern es gibt recht viele Ausnahmen. Ferner ist es eine wichtige Frage, ob das Licht bei der Keimung als strahlende Energie oder durch seine thermische Kraft wirkt. Speziell bei den Gramineensamen hat sich gezeigt, daß intermittierende Temperatur das Licht vollständig ersetzen kann und daß seine Wirkung hier hauptsächlich den dunklen Wärmestrahlen zuzuschreiben ist, während die leuchtende Spektralhälfte nur durch die Umwandlung der Lichtstrahlen in Wärmestrahlen in Betracht kommt, so daß es wahrscheinlich geworden ist, daß Poa und die anderen Gramineensamen nicht unter die Lichtkeimer gehören. Dagegen fand H. B a a r bei den Samen von Amarantus und Physalis, daß sich hier die hemmende Wirkung des Sonnenlichtes durch Ausschaltung der Wärmestrahlen nicht vermindert. Nebenbei bemerkt sei, daß sich aus den beachtens-

werten Untersuchungen dieses Autors ergeben hat, die Samen mehrerer Amarantus-, Celosia- und Blitumarten seien lichtscheu, ihre Keimung werde durch Verdunkelung auffallend gefördert. Dieses Resultat ist deshalb besonders interessant, weil in den meisten Fällen das Verhalten der Samen von verschiedenen Arten einer und derselben Gattung dem Lichte gegenüber unter sonst denselben Bedingungen ein ganz verschiedenes ist und Baar selbst fand, daß von den dimorphen Samen von Chenopodium album bei einer Temperatur von 10—15 ° C die mit glänzend schwarzer Hülle versehenen vom Lichte in der Keimung begünstigt werden, während die hell gefärbten sich indifferent verhalten. Außer solchen profusen Fällen ist in der großen Familie der Gesneriaceen durch W. Figdor[1]) ein Fall bekannt geworden, wo die Samen aller Arten ausschließlich im Lichte keimen. Die Amarantaceen bilden darin gewissermaßen ihr Gegenstück; die Dunkelkeimung ist bei ihnen so zum Artcharakter geworden wie bei den Gesneriaceen die Lichtkeimung. Zur Beurteilung des Einflusses der einzelnen Lichtfarben wurden von Baar *flüssige Strahlenfilter* benutzt, die entsprechenden Flüssigkeiten in Petrischalen eingefüllt, die nach dem Prinzip der Sennebierschen Glocken konstruiert waren (Fig. 3), aber vor diesen den Vorteil boten, die Lichtintensität bedeutend weniger abzuschwächen als diese. Während die Keimung der lichtempfindlichen Amarantussamen unter Bedingungen, welche die Lichtempfindlichkeit verstärken (Unterlassen der Vorquellung, niedere Temperatur) durch alle Spektralbezirke des Lichtes in gleicher Weise gehemmt wurde, zeigte sich bei den Samen von Physalis Franchetti eine ausgesprochene Bevorzugung bestimmter Lichtanteile, ein Optimum in Orange und Gelb, eine totale Hemmung bei Grün und ein zweites, aber tieferes Optimum bei Blau bis Violett: diese Lichtkeimer folgen also ebensowenig wie die dunkelkeimenden Amarantussamen der Lehmannschen Gesetzmäßigkeit.

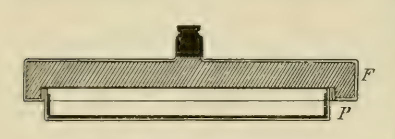


Fig. 5. Baarsches Keimgefäß. F = Strahlenfilter; P = Petrischale.

Die Verhältnisse, unter denen der betreffende Samen am Mutterorganismus zur Reife gelangt ist, beeinflussen auch die Keimung, so konnte Atterberg zeigen, daß Getreidesamen, welche bei niederer Temperatur gereift waren, zeitweise ein niedereres Temperaturoptimum bei der Keimung haben als solche, die unter hohen Temperaturen ihre Reife erlangten. Kinzel erntete Samen von Drosera- und Pinguiculapflanzen, die bei 50 ° C erzogen worden waren, welche dem Lichte gegenüber sich ganz anders verhielten als Samen von Pflanzen, die bei niederer Temperatur gehalten worden waren. Lubimenko[2]) kam sogar zu dem Satze, daß geradezu die Lichtintensität oder Dunkelheit, in welcher die Samen sich entwickeln, das Maximum ihrer Keimungsenergie bestimmt. Natürlich steht die Keimkraft auch zum Reifegrad und zur Gesamtentwicklung des Samens in Beziehung, aber auch die Keimungstemperatur zeigt zu diesen Momenten ein Verhältnis, indem beispielsweise schlecht genährte Getreidekörner in hoher Temperatur weniger gut keimen als in niederer. Einen großen Einfluß auf die Keimungsvorgänge übt das Lagern der geernteten Samen und die dabei

[1]) W. Figdor, Ber. d. D. bot. Ges. **25**, 582 (1907), **31**, 648 (1913).
[2]) Lubimenko, Révue gén. de bot. **23** (1913).

sich vollziehenden Nachreifungsvorgänge. Durch die Nachreife gewinnen Getreidekörner im Laufe eines Jahres 50 % an Keimvermögen. Während frische Samen von Poa pratensis im Dunkeln nicht, im Lichte dagegen zu 88 % auskeimen, gleicht sich diese Differenz innerhalb eines Jahres vollkommen aus. Während bei manchen Samen eine kurze Zeit der Nachreife schon diesen Einfluß des Lichtes auslöscht, kommen z. B. Gesneriaceensamen zu keiner Zeit der Nachreife im Dunkeln zur Keimung; ebenso fand L e h m a n n , daß Samen von Gloxinia hybrida auch nach 3½ Jahren, hart an der Grenze, wo die Keimfähigkeit überhaupt erlischt, ebenfalls nur im Lichte zur Keimung zu bringen waren. Nach H e i n r i c h e r und K i n z e l steht die Lichtempfindlichkeit in gewissem Grade im umgekehrten Verhältnis zum Alter der Samen. Frische „Lichtsamen“ werden besonders stark durch die Dunkelheit geschädigt, frische „Dunkelsamen“ besonders stark durch das Licht. Manche Samen besitzen eine ausgesprochene Ruheperiode, so die von Amarantus retroflexus, die im Herbst reif werden, aber weder um diese Zeit, noch auch im November und Dezember zum Keimen zu bringen sind, und zwar weder im Licht noch im Dunkeln. Die Ruheperiode dieser Samen kann, wie B a a r gefunden hat, durch Behandeln mit verdünnten Säuren unterbrochen werden, aber diese Ausschaltung der Ruheperiode durch verdünnte Salzsäure oder Phosphorsäure gelingt auch nur bei einem Teile der Samen (im Maximum bei 50 %) und auch nur im Dunkeln. Die Säure wirkt hier als Keimungsreiz, denn auch bei trocken unter Zimmertemperatur aufbewahrten Samen klingt die Ruheperiode gegen den März zu aus, und während im Zimmer unter normalen Temperaturen im Dunkeln eine Keimung erfolgen kann, läßt sich eine solche bereits im November durch Erhöhung der Temperatur auf 30 ⁰ C erzwingen. Der wichtigste der Faktoren, welcher die Lichtempfindlichkeit der Samen beeinflußt, die Temperatur, wurde auch von B a a r berücksichtigt. Die ersten eingehenden diesbezüglichen Versuche stammen von L e h m a n n , welcher zeigen konnte, daß Angaben über einzelne Licht- bzw. Dunkelkeimer ungenau waren, insofern es sich nicht um eine absolute Unfähigkeit handelt, im Licht oder im Dunkeln zu keimen, sondern daß diese Eigenheit durch die Temperatur sehr wesentlich modifiziert werden oder gar in das Gegenteil umschlagen kann. „Ohne Angabe wenigstens der ungefähren Temperatur haben Lichtkeimungsversuche überhaupt keinen Zweck mehr. Andererseits können wir aus den immerhin erheblichen Schwankungen der Temperatur im Laboratorium, welche, soweit unsere bisherigen Versuche erkennen lassen, doch keinen modifizierenden Einfluß auf die Lichtkeimung hatten, schließen, daß die Temperaturunterschiede, welche die Lichtempfindlichkeit verändern, immerhin erhebliche sein müssen.“ Natürlich kann aber der Lichteinfluß nicht einfach auf Temperaturwirkung zurückgeführt werden und das Licht braucht durch Temperaturen (wie bei Poa) und selbst hohe Temperaturen nicht ersetzbar zu sein. L e h m a n n fand in Phlox Drummondii einen Fall, in welchem Licht und Temperatur in der Weise gleichsinnig wirkten, daß das Licht bei niedriger Temperatur die Keimung schädigte, die erhöhte Temperatur aber auch im Dunkeln die Keimung herabsetzte, während Licht und hohe Temperatur gemeinsam die Keimung ganz oder fast ganz verhinderten. Aber auch der Ersatz der Lichtwirkung durch Temperatur w e c h s e l , wie er bei Poa ermöglicht wird, scheint viel weiter verbreitet und ließ sich beispielsweise auch bei Epilobium

hirsutum und Veronica longifolia feststellen. Nach B a a r erwies sich bei Amarantussamen die Keimungshemmung durch das Licht bei den niedrigen Temperaturen von 5—10 ⁰ C am größten und auch noch bei 15 ⁰ beträchtlich, bei 20 ⁰ dagegen bereits minimal, bei 25—30 ⁰ keimen die Samen im Licht und im Dunkeln gleich gut, bei 35 ⁰ C vollzieht sich eine Umstimmung der Lichtempfindlichkeit, die Zahl der im Lichte auftretenden Keimungen überwog die der verdunkelten Kulturen, und bei 90 ⁰ C keimen dieselben Samen, welche bei 5 ⁰ nur im Dunkeln keimten, ausschließlich im Lichte. G a ß n e r hat festgestellt, daß die Scheinfrüchte der südamerikanischen Graminee Chloris ciliata, deren Keimung durch das Licht günstig beeinflußt wird, im dunkeln Keimbett bei höherer Temperatur gehalten, später auch im Lichte nicht mehr auskeimen, daß aber die Dunkelheit ihren schädlichen Einfluß verliert, wenn die Temperatur während des Aufenthaltes im Dunkeln unter dem Keimungsminimum bleibt. *Der Apparat, welcher für konstante Temperaturen und Tageslichteinfall* benutzt wurde, bestand in einem großen, heizbaren Wasserbehälter, der oben mit einem schrägstehenden Drahtgeflecht bedeckt war, auf dem sich in schräger Lage gegen den Horizont die mit reinstem Filtrierpapier ausgekleideten Petrischalen befanden, in denen die Samen zum Keimen ausgelegt waren. Der ganze Apparat war oben durch ein abnehmbares Glasfenster verschließbar, so daß er äußerlich die Form eines Mistbeetkastens hatte. Es ist wichtig, daß man nie mit direktem, sondern stets nur mit zerstreutem Tageslicht (Schattenseite des Laboratoriums) beleuchtet. Dort, wo konstante Lichtquellen angewendet werden, bedient man sich meist des Inkandeszenzlichtes von N e r n s t oder der Bogenlampe: in beiden Fällen ist darauf Rücksicht zu nehmen, daß die Kerzenstärke der Lichtquellen durch den Gebrauch abnimmt; beim Nernstlicht werden den Intensivbrennern ebenso wie bei der Quarzglasquecksilberlampe (bei welcher aber die sehr großen Mengen Ozon berücksichtigt werden müssen, die sich beim Gebrauche entwickeln) empirische Tabellen mit der abfallenden Kurve der Lichtintensitäten beigegeben. Die Wärmewirkung der Lichtquelle wird, natürlich auf Kosten der Intensität, durch Wasserfilter ausgeschaltet.

Von großer Wichtigkeit ist G a ß n e r s Entdeckung, daß die Samenspelzen bezüglich des Lichtbedürfnisses von Chloris eine entscheidende Rolle spielen, indem nicht entspelzte Körner fast nur im Lichte zur Keimung zu bringen waren, entspelzte aber ebensogut im Lichte wie im Dunkeln. Die Samen von Chloris ciliata keimen also an sich auch im Dunkeln, durch die Spelzen werden sie zu obligaten Lichtkeimern. Ebenso wie aber die unentspelzten Samen s o f o r t dem Tageslicht ausgesetzt werden müssen, um die Wirkung der Belichtung zu erfahren, so liefert auch die Entspelzung nur dann maximale Keimprozente, wenn die Samen sofort entspelzt ins dunkle Keimbett gelegt werden und nicht erst einige Zeit unentspelzt im dunkeln Keimbett liegen. Die Spelzenfunktion besteht höchstwahrscheinlich in einer Erschwerung des Sauerstoffzutrittes zum inneren Korn, denn Behandlung mit reinem Sauerstoff und Entspelzung haben den gleichen Erfolg. Die an sich auch in Dunkelheit keimenden entspelzten Körner verwandeln sich bei Erschwerung des Sauerstoffzutrittes in Lichtkeimer. Aber auch ein vorausgehender Aufenthalt der nicht entspelzten Körner im dunkeln Keimbett bei niederen Temperaturen (6—10 ⁰) machte die ursprünglich

auch in Dunkelheit keimenden entspelzten Körner zu Lichtkeimern. Diesen Effekt hat aber nicht eine bestimmte niedere Temperatur, sondern alle Temperaturen unter dem Keimungsoptimum, das heißt der Temperatur des schnellsten Keimungsverlaufes, hier etwa von 30 ° abwärts, soweit nicht eine dauernde Schädigung der Keimkraft des Samens durch die niedrige Temperatur eingetreten ist. Übrigens keimen entspelzte Körner im Dunkeln und im Licht gleich gut nur dann, wenn sie gut nachgereift sind, dagegen zeigen sich auch die entspelzten Körner durch das Licht in der Keimung befördert, wenn sie ungenügend nachgereift sind. Durch die Nachreife wird also eine gewisse erhöhte Keimungsenergie hervorgerufen, welche bei entspelzten Körnern, also bei maximalem Sauerstoffzutritt, die Wirkung des Lichtes entbehrlich macht. Wenn demnach entspelzte Körner geringer Nachreife obligate Lichtkeimer sind, so muß man daran denken, daß durch die chemische Wirkung des Lichtes im Einvernehmen mit den mineralischen Reservestoffen beschleunigter Abbau hochmolekularer Substanzen oder inaktiver Enzymformen erfolgt, wodurch dann Material für die Prozesse des Keimungsstoffwechsels gegeben ist. Möglicherweise kommt es unter dem Einflusse des Lichtes auch zur Beschleunigung von Synthesen, aber die Unentbehrlichkeit des Sauerstoffs läßt eher auf Vorgänge der Zerspaltung schließen, welche das Licht in hervorragendem Maße zu katalysieren imstande ist, worüber wir durch die Forschungen von C. Neuberg[1]) orientiert worden sind. Ungenügende Nachreife und ungenügende Temperaturen summieren sich in ihren Wirkungen ebenso wie ungenügender Sauerstoffzutritt. Auffallend ist die Verfärbung, welche bestimmte Partien der Samenschale erfahren, wenn die Keimung aus irgendeinem Grunde verzögert ist: diese Verfärbung, anfangs dunkelbraun, später schwarz, betrifft jenen Teil der Samenschale, welcher den Embryo bedeckt und die längere Zeit im Keimbett ungekeimt verbliebenen Körner mit dem anscheinend schwarzen Embryo (der aber ebenso wie das Nährgewebe sich niemals schwarz färbt) bieten ein charakteristisches Bild. Dieses auffällige Eintreten von Veränderungen in der Färbung der Samenschale weist stets auf Anomalien im Keimungsverlaufe hin. Da die Keimung ein biochemischer Vorgang ist und eine Beschleunigung der Keimung auf einer Beschleunigung der in Rede stehenden Prozesse beruhen muß, chemische Vorgänge aber bei höherer Temperatur schneller verlaufen, ist es begreiflich, daß eine Steigerung der Keimprozente durch das Licht bei gleichzeitiger niederer Temperatur nicht hervorgerufen wird, ja, daß sogar niedere Temperatur infolge gleichsinniger Wirkung mit der Kälte eine Hemmung hervorruft. Die Lichteinwirkung zum Auslösen der Keimung wird unnötig, die Keimung erfolgt also auch bei Dunkelheit, wenn die Körner statt in destilliertem Wasser in Knopscher Nährlösung oder auf Erde zum Keimen gebracht werden. Die beschriebenen Tatsachen sind zuerst durch Lehmann, dann von Gaßner bei den Körnern von Chloris ciliata gefunden worden und eine Verallgemeinerung wäre sicherlich verfrüht, aber es macht doch den Eindruck, als ob die keimungsbeeinflussenden Momente, Licht, Temperatur, Nachreife, Sauerstoff, qualitative Beschaffenheit des Keimbettes, in ihrer Wechselwirkung bei jeder Samenkeimung wirksam sind und daß jedenfalls beim Ankeimen in allen Fällen auf diese Momente ein Augenmerk gelenkt werden müßte. Auf die *Wichtig-*

[1]) C. Neuberg, Die Beziehungen des Lebens zum Lichte, Berlin 1913.

keit des Substrates für die Lichtkeimung bei Samen hat schon früher G. Lehmann aufmerksam gemacht, welcher zeigen konnte, daß Samen von Ranunculus sceleratus, die auf Filtrierpapier im Dunkeln nicht keimten, unter sonst gleichen Bedingungen auf Erde oder Knopscher Nährlösung bestimmter Konzentration leicht im Dunkeln zur Keimung gebracht werden konnten. Einen wie großen Einfluß die Wahl des Filtrierpapieres als Keimbett übt, zeigte E. Lehmann an den Samen von Atropa Belladonna, die einmal auf gewöhnlichem (ungereinigtem) Filtrierpapier, das anderemal auf Filtrierpapier Nr. 400 von Drewerhoff, Dresden, zur Keimung ausgelegt, im ersteren Falle zu 0 % keimten, im letzteren zu 40 %. Die Samen des französischen Raygrases zeigen im Keimbette große Neigung, zu verschimmeln und zu faulen. M. Heinrich[1]) brachte die Samen entspelzt ins Keimbett, wodurch der Keimungsverlauf sehr beschleunigt wurde, einerseits infolge Wirksamkeit des Sauerstoffs auf die Mobilisierung der Reservestoffe, anderseits auf die Zerstörung der Bakterien, denn die das Faulen verursachenden Bakterien sitzen hauptsächlich zwischen den nackten Samen und den ziemlich losen Spelzen. Statt des Filtrierpapieres haben sich übrigens Baumwolläppchen bewährt. Sie haben den Vorteil vor Filtrierpapier, abgesehen von dem etwas größeren Keimergebnis, sich bequemer handhaben zu lassen, da die Samen beim Befeuchten nicht so leicht zusammengespült werden und beim Abheben der Keimlinge die Würzelchen weniger fest an der Unterlage haften.

Einen sehr *zweckmäßigen Keimapparat*, den Lehmann u. a. auch für die Prüfung des Lichteinflusses auf die Keimung benutzt haben, hat Rodewald[2]) angegeben; derselbe besteht aus einem Zinkblechkasten, in welchem eine Drainage aus Glasröhren liegt (Fig. 6). Die offenen Enden der Röhrenzweige, die vor der Ausmündung etwas verengt sind, werden mit Asbest oder Watte lose verschlossen und darauf der ganze Kasten ca. 4 cm hoch mit ausgeglühtem und mit Salzsäure gewaschenem Seesand gleichmäßig angefüllt. Dann ist von der Drainage nur das hochgebogene Rohrende zu sehen, das durch einen Kautschukschlauch mit der abwärts gerichteten Glasröhre *H* verbunden werden kann. Dieser Sandkasten wird in ein Wasserbad aus Zinkblech gestellt, das auf dem Tische *A* befestigt ist. In dem Wasserbade liegt am Boden eine ca. 2½ cm dicke, mit Alkohol gefüllte Röhre, deren eines Ende rund zugeschmolzen ist und deren anderes Ende in eine dünne Röhre übergeht, die sich durch einige Biegungen der Gestalt des Wasserbades anpaßt und sich dann in eine U-Röhre verwandelt, die bei *T* sichtbar ist. Der u-förmige Teil der Röhre ist mit Quecksilber, der übrige Teil völlig mit Alkohol ausgefüllt. Die Röhre dient als Thermoregulator, indem das Quecksilber, wenn es sich durch die Ausdehnung des Alkohols verschiebt, den Gaszufluß zum Brenner in bekannter Weise reguliert. Eine Temperaturveränderung des Wasserbades um einen Grad verschiebt das Quecksilber um ca. einen halben Zentimeter, was eine sehr empfindliche Temperaturregulierung gestattet. Der Sandkasten hat Füße, die so hoch sind, daß die Röhre nicht gedrückt wird. Das zum Heizen ver-

[1]) M. Heinrich, Über die Erfahrungen bei den Keimprüfungen 1910/11, Landw. Vers. stat. 78, 165 (1912).

[2]) H. Rodewald, Zur Methodik der Keimprüfungen, Landw. Vers.-Stat. 49, 278 (1898).

wendete Gas geht bei *K* über gebrannten Kalk, von dort zum Thermoregulator und dann durch eine Bohrung im Tisch zum Brenner *B*, der aus einem Messingrohr besteht, in welches vier Spitzen aus Speckstein mit je einer feinen runden Öffnung eingesetzt sind. Über den Flämmchen stehen auf Dreifüßen Messingbleche, die die Wärme verteilen. Der Heizraum des Keimapparates, in dem der Brenner *B* liegt, kann durch die Klappe *V* verschlossen werden. Durch verschiedene Öffnungen können die Verbrennungsgase entweichen, resp. frische Luft zuströmen,

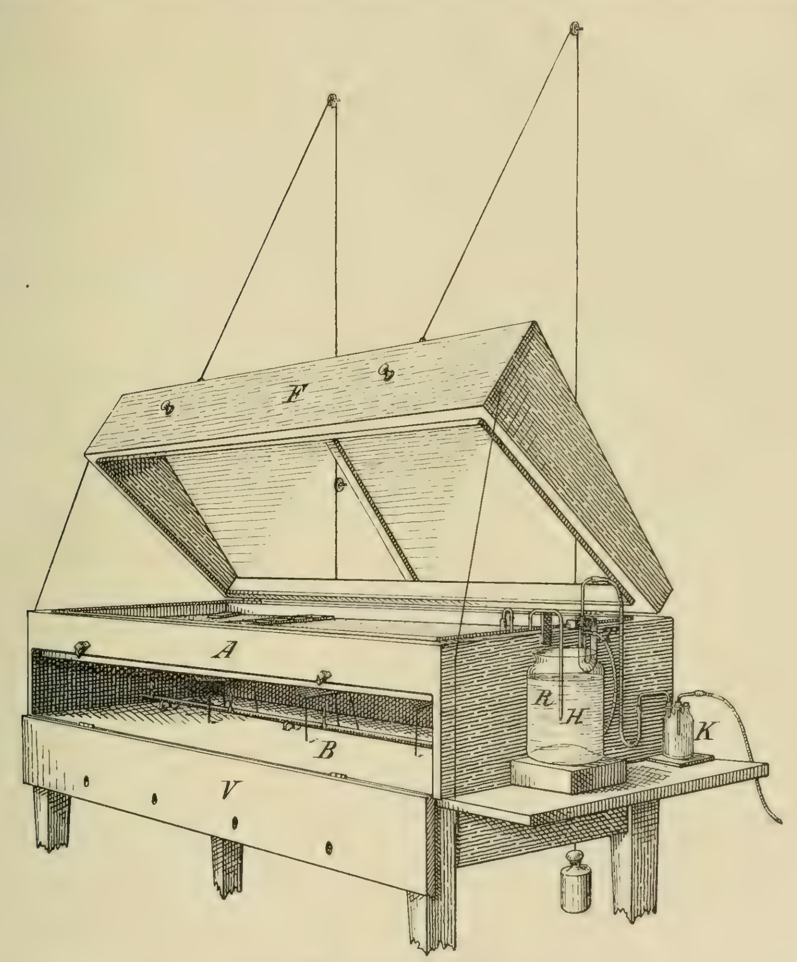


Fig. 6. Keimapparat von Rodewald.

die Wärme verteilt sich sehr gleichmäßig unter dem Wasserbade. Der Sand im Sandkasten steht in keiner Verbindung mit dem Wasser im Wasserbade. Vor Gebrauch wird der Sand zunächst mit Wasser übergossen, so daß es ca. 1 cm hoch über dem Sand steht. Dann wird die Sandoberfläche mit einem Lineal geebnet und die Drainage durch Ansaugen des Hebers *H* in Tätigkeit gesetzt; das auf dem Sande stehende Wasser fließt ab. Wenn die Oberfläche des Sandes nicht völlig horizontal liegt, so werden die höheren Stellen zuerst aus der Wasserober-

fläche hervortreten und man kann dann während des Abfließens den Sand völlig horizontal legen. Schließlich stellt man unter den Heber *H* ein Glasgefäß *R* mit breiter Mündung, das mit Wasser gefüllt wird und aus dem sich der Sand durch die Drainage selbsttätig befeuchtet. Der Feuchtigkeitsgrad des Sandes hängt von der Höhe des Wasserspiegels in *R* ab. Steht dieser mit der Oberfläche des Sandes in einer Ebene, so steht auch das Wasser im Sande in der Oberflächenebene. Der Sand saugt aber durch die in ihm wirksamen Kapillarkräfte auch dann noch Wasser aus *R*, wenn die Wasseroberfläche in *R* sehr beträchtlich tiefer liegt als die Oberfläche des Sandes; eine Niveaudifferenz von ca. 8 cm zwischen Sand- und Wasseroberfläche gibt dem Sande gerade den richtigen Feuchtigkeitsgehalt. Der Wasserspiegel sinkt, der Wassermenge entsprechend, die aus dem Sande durch Verdunstung usw. verloren geht, und muß täglich wieder auf die normale Höhe gebracht werden. Auf den Sand, der nach und nach die Temperatur des Wasserbades annimmt, werden Keimschälchen gestellt und leicht angedrückt. Es sind quadratische poröse Tonschalen in den Dimensionen 5×6 cm und 1 cm hoch. Sie sollen nach der jedesmaligen Reinigung unter Wasser aufbewahrt werden, wodurch sie ihre Porosität bewahren; sie lassen sich im Papinschen Topf sehr gut sterilisieren, werden dann mit dem Blechgestell, auf dem sie in den Autoklaven kommen, herausgehoben und unter Wasser gesetzt. In die herausgenommenen nassen Schälchen werden die Körner geschüttet und mit dem Hornspatel gleichmäßig verteilt. Auf dem Wasserbade des Keimkastens ist ein Deckel *F* angeschlossen, der mit Zinkblech ausgeschlagen und mit einer durch Kitt wasserdicht eingelegten Glasplatte verschlossen ist. Bei geschlossenem Deckel kondensiert sich der Wasserdampf, fließt in Tropfen nach hinten und wird durch einen unter dem Deckel vorspringenden Blechrand dem Wasserbade zugeführt. Am vorderen Ende des Apparates, wo die Glasröhren zum Vorschein kommen, ist der Deckel etwas kürzer als das Wasserbad, dadurch entsteht Platz für die Röhren, die übrigens so gebogen sind, daß sie das Schließen des Deckels nicht hindern. Das Sandbad wird durch den Deckel völlig bedeckt, aber das Kondenswasser tropft stets in das Wasserbad. Der Deckel muß zum Lüften und Abtrocknen der Proben täglich zwei Stunden geöffnet werden. Mit der Zeit verstopfen sich die Filter der Drainage, worauf diese umgelegt und mit neuen Filtern versehen werden muß. Natürlich hängt die Zeit des Funktionierens von der Reinheit des zugeleiteten Wassers ab, in der Regel ist die Funktionsdauer ein halbes Jahr oder länger. In diesem Apparat ist z. B. die Beleuchtung horizontal nebeneinander stehender Schälchen von oben durch die abschließende Glasscheibe leicht möglich, was für Versuche mit lichtkeimenden Samen große Vorteile bietet, ferner ist die Temperaturregulierung und Durchlüftung des Apparates eine sehr gute. Wie sehr es bei solchen Versuchen notwendig ist, sich einer künstlichen Lichtquelle zu bedienen (der Inkandeszenzstrumpf einer Grätzinlampe liefert drei Wochen hindurch fast dieselbe Lichtstärke, muß aber dann ausgewechselt werden; freilich treten hier die kurzwelligen Strahlen sehr in den Vordergrund — 158 Kerzen im Grün, 63 Kerzen im Rot — während bei Petroleumlicht die roten dominieren), liefern die Zahlen von W e b e r, der in der Natur in wenigen Sekunden Änderungen von 100 % in der Lichtintensität konstatierte. So herrschten an derselben Stelle um 12 Uhr mittags an aufeinanderfolgenden Tagen folgende Intensitäten:

9.	März	2 700 H.K.
10.	„	42 700 „
11.	„	5 000 „
7.	Juli	18 400 „
8.	„	102 300 „

und die dreijährigen Monatsmittel betrugen:

Januar	11 140 H.K.	Juli	50 020 H.K.
Februar	23 000 „	August	57 190 „
März	34 760 „	September	38 080 „
April	49 820 „	Oktober	26 770 „
Mai	60 950 „	November	9 743 „
Juni	57 280 „	Dezember	5 469 „

Wie jeder physiologische Prozeß ist die Keimung an bestimmte Temperaturen gebunden, deren Grenzen aber nicht allzu enge sind: sie schwanken zwischen 0—15 ° C nach unten und 35—40 ° C nach oben, wobei sich eine Verzögerung der Keimung bei Annäherung an die Temperaturgrenzwerte ergibt. Das zwischen Minimum und Maximum gelegene Temperaturoptimum der Keimung ist aber kein Mittelwert zwischen den Grenzzahlen, sondern liegt dem Maximum weit näher als dem Minimum. F. Haberlandt gibt folgende Werte an:

	Minimum	Maximum	Optimum	Die Keimung erfolgt mit dem Hervorbrechen des Würzelchens in Tagen bei			
	in Graden Celsius			4,38° C	10,25° C	15,75° C	19° C
Weizen . . .	3— 4,5	30—32	25	6	3,0	2,0	1,75
Roggen . . .	1— 2	30	25	4	2,5	1,0	1,0
Gerste . . .	3— 4,5	28—30	20	6	3,0	2,0	1,75
Hafer . . .	4— 5	30	25	7	3,75	2,75	2,0
Mais	8—10	40—44	32—35	—	11,25	3,25	3,0
Moorhirse . .	8—10	40	32—35	—	11,5	4,75	4,0
Reis	10—12	36—38	30—32	—	—	—	—
Französisches Raygras . .	3	32	28	9	7,5	4,5	3,0
Lieschgras .	3— 4	30	26	—	6,5	3,25	3,0
Raps	2— 3	?	?	—	—	9,0	6,25
Weißer Senf .	1	?	?	2	1,5	1,0	0,75
Leindotter . .	1	?	?	4	2,0	1,5	1,0
Lein	2— 3	30	25	8	4,5	2,0	2,0
Mohn	3— 4	32	26	10	4,75	2,5	2,0
Tabak . . .	13—14	35	28	—	—	9,0	6,25
Hanf	1— 2	45	35	3	2,0	1,0	1,0
Kümmel . .	8— 9	30	25	—	16,5	6,5	5,25
Möhre . . .	4— 5	30	25	—	6,75	4,25	3,25
Zuckerrübe .	4— 5	28—30	25	22	9,0	3,75	3,75
Sonnenblume	8— 9	35	28	—	25,0	3,0	2,0
Rotklee . . .	1	37	30	7,5	3,0	1,75	1,0
Luzerne . .	1	37	30	6	3,75	2,75	2,0
Fisole . . .	10	37	32	—	3,0	3,0	2,75
Erbse . . .	1— 2	35	30	5	3,0	1,75	1,75
Linse	4— 5	36	30	6	4,0	2,0	1,75
Wicke . . .	1— 2	35	30	6	5,0	2,0	2,0
Hopfenluzerne	2— 3	32—35	28	10	7,5	4,0	3,5
Lupine . . .	4— 5	37—38	28	—	—	—	—
Melone . . .	12—15	40	35	—	—	15,0	17,0
Gurke . . .	12	40	35	—	—	12,0	4,5
Kürbis . . .	12	40	33—34	—	—	10,75	4,0
Paradiesapfel	—	—	—	—	—	6,0	3,25
Buchweizen .	—	—	—	8	4,5	3,5	3,0
Saubohne . .	—	—	—	7	6,5	4,75	4,25
Platterbse . .	—	—	—	7	3,5	2,75	2,25
Esparsette .	—	—	—	—	7,25	3,5	3,0

Man ersieht aus dieser Zusammenstellung, daß die Fähigkeit, bei einer Temperatur von + 4 ° C zu keimen, einer großen Reihe von Samen eigen ist, wobei sich allerdings die Zeitdauer, die zur Keimung benötigt wird, um so mehr erhöht, je näher die Temperatur dem Minimum liegt; Zuckerrübe braucht bei einer Temperatur von 9 ° C 22, bei 16 ° Wärme nur $3\frac{3}{4}$ Tage zur Keimung. Daß aber nicht allein die Mobilisierung der Reserven durch die Wärme bewirkt wird, geht daraus hervor, daß die höhere Temperatur durchaus nicht durch eine längere Zeit einwirkende niedrigere ersetzt werden kann. Bei 0 ° kamen in Haberlandts Versuchen zur andauernden Entwicklung u. a. der Senf, der Leindotter, der Rotklee und die Luzerne, während das Temperaturminimum für die Keimung von Pflanzensamen aus wärmeren Klimaten wie Sorghum saccharatum, Oryza sativa, Ricinus africanus, Gossypium herbaceum, Sesamum orientale usw. zwischen 10—15 ° C liegt. Je größer die Differenz zwischen Minimum und Maximum, um so größer die Verbreitung der betreffenden Pflanzen; so ist beim Hanf die unterste Grenze 1 ° C, die oberste 45 ° C, die Differenz also 44 °, während sie beim Ricinus nur 20 ° beträgt. Hier gilt etwas ganz ähnliches wie bezüglich des Lichtgenusses, von dem später die Rede sein soll. Die Minima sind, wie erwähnt, für die Pflanzen wärmerer Klimate höher. Die folgenden, durch Haberlandts Versuche ermittelten Werte zeigen, wie bei einigen Pflanzen wärmerer Klimate sich mit der Temperatur die Keimdauer verschiebt:

	10° C		12° C		15° C		20° C		25° C		30° C		35° C		40° C		45° C	
	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage	% gekeimter Samen	Keimdauer Tage
Sorghum saccharat.	—	—	14	382	27	126	56	98	37	41	25	34	14	42	—	—	—	—
Penicillaria spicata	—	—	4	420	9	149	10	135	13	70	10	43	7	39	—	—	—	—
Oryza sativa. . . .	—	—	68	470	93	166	96	124	97	77	97	54	82	59	—	—	—	—
Ricinus africanus .	—	—	—	—	40	227	75	125	90	81	85	59	70	65	—	—	—	—
Hibiscus cannabinus	—	—	2	360	14	116	12	66	15	54	10	38	11	37	—	—	—	—
Gossypium herbac.	—	—	3	456	54	136	74	89	68	58	50	52	65	53	15	70	—	—
Chorchorus olitorius	—	—	—	—	54	83	40	77	62	68	82	63	46	25	14	70	—	—
Sesamum orientale	—	—	5	456	95	144	92	109	96	42	100	24	100	22	92	46	—	—
Cucumis Melo . . .	—	—	—	—	12	302	78	151	54	67	56	54	32	41	20	48	—	—
Phaseolus Mungo .	85	432	100	360	100	56	86	47	100	28	100	24	100	22	100	22	—	—
Cajanus bicolor . .	—	—	50	456	44	200	52	145	44	67	46	58	34	70	—	—	—	—
Böhmeria nivea . .	—	—	39	475	48	199	50	170	51	159	50	78	6	70	—	—	—	—

Zahlreiche Gifte erhöhen in sehr geringen Mengen die Intensität des Keimungsvorganges, wirken als Reizmittel und beeinflussen gewissermaßen katalytisch den Prozeß des Stoffansatzes. Besonders Mangan- und Aluminiumsalze wirken nach Stoklasa wachstumfördernd. 1 % Bleinitrat, 0,01 % Borsäure in der Nährlösung wurden von Bertrand bzw. Agulhon als günstig erkannt. Bokorny stellte fest, daß 0,01 % Cs_2SO_4 die Gerstenkeimung, 0,05 % Li_2SO_4 die Erbsen- und Linsenkeimung, Rb_2SO_4 zu 0,2 % die Keimung von Weizen, Erbse, Linse, Bohne, Kohl fördern; 0,005 % CS_2 haben denselben Erfolg bei Gerste, 0,01 % K_2CrO_4 bei Bohne und Linse, 0,0005 % $HgCl_2$ bei Kresse, 0,0025 % $CuSO_4$ bei Gerste und 0,005 % $CuSO_4$ bei

Kresse, 0,0025 % Phenylhydrazin schon nach zwei Tagen bei Kresse, 0,0025 % Anilin an Gerste und Kresse, salzsaures Hydroxylamin zu 0,01 % bei Gerste, 0,001 % HF bei Erbse, Linse, Gerste. Der letztgenannte Autor, der eine große Reihe von Stoffen auf ihr Verhalten zur Keimung prüfte, zog die Samen direkt in der Giftlösung, welche auf Fließpapier gegossen war und brachte sie hier zum Keimen. Es sei hier eine tabellarische Übersicht der Keimungsversuche Bokornys[1]) gegeben. (Siehe die Tabellen auf Seite 32–35.)

Äthylalkohol ist zu 2 % nachteilig für Wurzeln bei Bohne, 1 % nur noch wenig, 0,5 % ist förderlich, Propylalkohol im Betrage von 2 % schädlich, Isobutylalkohol schon von 0,5 % an, Amylalkohol ebenso, von Schwefelkohlenstoff verzögern 0,02 % die Keimung bei Gerste, 0,01 % sind gleichgültig, 0,005 % fördern das Wachstum, dasselbe gilt für Kresse. Ebenso ging schon früher bei Behandlung des gleichen Problems W. Sigmund[2]) vor; er ließ die Samen 24 Stunden in der Auflösung der zu prüfenden Substanzen in Wasser quellen und setzte sie dann zwischen feuchtem Filtrierpapier auf einer ebenfalls feucht erhaltenen Unterlage von Sägespänen in flachen Schalen zur Keimung aus. Eine gleichmäßige Befeuchtung wurde teils durch Zufuhr gleicher Wassermengen erzielt, teils dadurch, daß zu jeder Keimschale ein mit Wasser gefülltes Becherglas gestellt wurde, aus welchem ein wassersaugender Papierstreifen ins Keimbett hineinragte. Die Wirkung fester, im Wasser nicht oder schwerlöslicher Stoffe wurde derart untersucht, daß auf eine Unterlage von Sägespänen ein Blatt Filtrierpapier gelegt wurde, auf welches der feste Stoff in Pulverform gestreut war; die Versuchssamen wurden ohne vorherige Quellung auf dem Filtrierpapier verteilt, mit dem gepulverten festen Körper lose zugedeckt und dann mit Wasser befeuchtet. Der Einfluß von Dämpfen auf die Keimung wird untersucht, indem die Keimschalen unter Glasglocken gebracht werden, die mit einer Sperrflüssigkeit abgeschlossen sind; ist die Sperrflüssigkeit Wasser, so ragen aus ihr in die Keimschale saugende Papierstreifen, sonst muß durch Wassernäpfe unter der Glocke für Erhaltung des feuchten Luftraumes gesorgt sein. Selbstredend ist immer darauf Rücksicht zu nehmen, ob die betreffenden Dämpfe oder Gase in Wasser löslich sind: ist dies der Fall, dann kann die angewendete Menge des gasförmigen Mediums nicht als voll zur Wirkung gelangend angesehen werden. Ist genügend Substanz unter der Glocke, daß die Dämpfe unter den herrschenden Temperatur- und Druckverhältnissen den Luftraum dauernd erfüllen, dann ist die Menge des wirkenden Gases oder Dampfes aus dem Volumen der Glocke zu bestimmen; ist das aber nicht der Fall, wünscht man eine geringere als Vollsättigung des betreffenden Raumes mit dem gasförmigen Medium, dann muß man zunächst die Tension der verdampfenden Flüssigkeit kennen und danach mit Berücksichtigung des Glockenvolumens die Dosis der verdampfenden Flüssigkeit bemessen. Handelt es sich um ein Gas, so kann man, wenn Vollsättigung erwünscht ist, dasselbe mittels eines gebogenen, durch den Kautschukstöpsel der Glocke, welche natürlich auf einer Glasplatte luftdicht aufgeschliffen und mit Vaselin gedichtet sein muß, bis zum Boden der Glocke reichenden Glasrohres hinein-

[1]) Th. Bokorny, Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Keimung der Pflanzensamen, Biochem. Zeitschr. **50**, 1 (1913).

[2]) W. Sigmund, Über die Einwirkung chemischer Agenzien auf die Keimung, Landw. Vers.-Stat. **47**, 1 (1896).

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Chlorkalium	—	—	—	0,25 % noch schädlich, von 0,1 % abwärts ohne Einfluß.	Wie Erbse.	—	—
Monokaliumphosphat	—	—	—	1 % schadet nicht, 2 % erst nach einig. Zeit.	—	—	—
Chlornatrium	1 % hemmt erheblich, 0,5 % ohne Einfluß.	1 % hemmt wenig, 2 % beträchtlich, 5 % verhindert die Keimung.	—	0,5 % hemmt die Keimung, 0,1 % nicht mehr.	0,1 % hemmt noch, 0,05 % nicht mehr.	0,5 % hemmt, 0,1 % fast nicht mehr.	—
Salmiak	0,5 % hemmt, 0,1 % fast nicht mehr, 0,05 % gar nicht.	Wie Gerste	0,1 % beeinträchtigt die Keimung stark.	Wie bei Weizen beeinträchtigt 0,1 % stark.			
Ammonnitrat	0,1 % beeinträchtigt stark.	—	—	—	—	—	—
Ammonsulfat	0,1 % benachteiligt das Wachstum der Keimlinge.		—	—	—	—	—
Natriumnitrat	1 % beeinträchtigt die Keimung, 0,1 % nicht mehr.	1 % hemmt stark, 0,1 % ein wenig.	—	1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.	—	1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.	—
Kalinitrat	1 % sehr schädlich, 0,1 % hemmt noch etwas.	—	—	0,1 % hemmt das Wurzelwachstum, 1 % sehr schädlich.	—	Noch 0,1 % hemmt.	1 % hemmt, 0,1 % verlangsamt d. Wurzelwachstum.
Calciumnitrat	2 % schädlich, 1 % hemmt, 0,2 % unschädlich.	—	—	1 % hemmt wenig, 0,1 % nicht mehr.	1 % hemmt noch etwas.	1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.	1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.
Magnesiumnitrat	0,1 % schadet nicht 1 % sehr schädlich.	—	—	0,1 % hemmt nicht, 1 % ist schädlich.	0,1 % hemmt ein wenig, 1 % ist schädlich.	0,1 % hemmt ein wenig, 1 % ist schädlich.	—
Chlorcalcium	—	2 % hemmt ein wenig, 1 % fast nicht mehr, 5 % verhindert.	—	—	—	—	—

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Kupfervitriol . . .	0.0001 % hindert das Auskeimen.	0,01 % wirkt etwas hemmend, 0,005 % nicht mehr.	—	0,0001 % hemmt noch etwas.	—	0,001 % hemmt noch die Keimung.	0,0001 % hemmt und 0,001 % hindert die Keimung.
Sublimat	0,01 % schädigt die Wurzeln stark.	0,01 % schädigt stark, 0,001 % nicht mehr, 0,0005 % beschleunigt die Keimung.	—	—	—	—	—
Eisenvitriol . . .	0,1 % hemmt, 0,02 % ist ohne Einfluß.	0,1 % schädigt (tötet) die Wurzeln, 0,02 % ohne Einfluß.	—	—	—	—	—
Zinkvitriol	0,5 % schädlich, 0,01 % u. 0,02 % unschädl., aber nicht fördernd.	—	—	0,1 % und 0,02 % unschädlich.	0,1 % verzögert, 0,02 % nicht mehr.	0,1 % und 0,02 % unschädlich.	—
Cadmiumsulfat . .	0,02 % noch schädlich.	—	—	0,02 % noch merkl. schädl.	—	0,02 % noch schädlich.	—
Mangansulfat . . .	1 % schädlich, 0,2 % nicht mehr.	—	—	0,5 % noch schädlich, bei 0,2 % schädigende Wirkung nach 18 Tagen.	0,2 % schädlich.	0,1 % schädigende Wirkung nach 18 Tagen, 0,05 % unschädlich.	—
Gelbes chromsaures Kali	0,1 % schädlich, 0,02 % nicht mehr.	—	—	0,1 % sehr schädlich.	0,1 % schädlich, 0,02 % nicht, förd. aber nicht.	0,1 % schädlich, 0,02 % nur für Wurzeln.	—
Rotes chromsaures Kali	—	—	—	Noch 0,001 % schädlich.	—	—	—
Lithiumsulfat . . .	0,05 % schädlich, 0,005 % fördernd.	—	—	0,05 % fördernd, nach 8 Tagen bedeutend. Vorsprung.	—	0,05 % fördert beträchtlich.	Mit 0,05 % etwas zurückbleibend.
Caesiumsulfat . .	0,01 % fördert sehr deutlich nach 8 Tagen.	—	—	0,1 % bis 0,2 % schädigt allmählich.	0,1 % – 0,2 % allmählich schädigend.	Wie bei Bohne.	Wie bei Bohne.
Rubidiumsulfat . .	—	—	0,2 % fördert die Keimung.	0,5 % etwas schädlich, 0,2 % sehr förderlich.	Wie Erbse.	Wie Erbse.	Wie Erbse.

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Ammoniak	—	0,01 % verzögert noch.	—	—	—	—	—
Salzsaures Hydroxylamin	—	0,01 % verzögert, 0,025 % hemmt noch.	—	—	—	—	—
Diäthylamin	0,1 % fördert schon etwas.	0,1 % hemmt nicht.	0,1 % hemmt nicht.	—	—	—	—
Phenylhydrazin	—	0,05 % hemmt etwas, 0,01 % nicht mehr, 0,005 % fördert.	—	—	—	—	—
Anilin	0,005 % hemmt kaum mehr, 0,0025 % fördert, 0,001 % ohne Einfluß.	0,0025 % fördert, 0,001 % ebenso.	0,005 % hemmt kaum, wohl aber 0,01 %.	—	—	—	—
Tetraäthylammoniumhydroxyd	0,05 % fördert ein wenig.	0,05 % fördert ein wenig.	0,5 % schadet nicht.	—	—	—	—
Ammonkarbonat	0,5 % schadet.	0,1 % unschädl., 0,5 % schadet.	0,1 % unschädl., 0,5 % schadet.	0,5 % schädlich, 0,1 % unschädl.	—	—	—
Kalilauge	0,5 % schadet, 0,1 % hemmt etwas, 0,01 % gleichgültig.	0,5 % schädlich, 0,1 % hemmt, 0,01 % gleichgültig.	—	—	—	—	—
Natronlauge	0,1 % verlangs. nicht, 0,05 % beschleunigt.	—	—	—	—	—	—
Fluornatrium	—	0,025 % hemmt schwach, 0,1 % sehr stark, 0,01 % gleichgültig.	—	—	—	—	—
Flußsäure	0,001 % fördert, 0,01 % schadet, 0,1 % tötet.	0,01 % hemmt schwach, 0,1 % tötet, 0,001 % schadet nicht.	—	0,001 % fördert, 0,01 % schadet kaum, 0,1 % tötet.	0,01 % hemmt etwas, 0,001 % gleichgültig.	0,01 % hemmt noch etwas, 0,001 % fördert.	—
Kalioxalat	—	0,1 % hemmt, 0,01 % nicht mehr.	—	—	—	—	—

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Oxalsäure	—	0,1%tötet, 0,01% gleichgültig.	—	—	—	—	—
Kalichlorat	0,1 % hemmt stark.	Noch 0,01 % hemmt ein wenig.	—	—	—	—	—
Jod	—	0,01% hemmt ein wenig, 0,001 % gar nicht.	—	—	—	—	—
Kalipermanganat .	—	0,01% hemmt ein wenig, 0,001 % nicht mehr.	—	—	—	—	—
Schwefelsäure . .	—	0,05 % hemmt stark, 0,01 % gleichgültig.	—	—	—	—	—
Phosphorsäure . .	—	0,1 % hemmt merklich, 0,01 % gleichgültig.	—	—	—	—	—
Borsäure	—	0,1 % hemmt stark, 1 % tötet, 0,01 % gleichgültig.	—	—	—	—	—
Schweflige Säure .	—	0,1 % hemmt, 0,01 % ohne Einfluß.	—	—	—	—	—
Salpetrige Säure (Kalinitrit)	—	0,1 % hemmt etwas, 0,01 % nicht mehr.	—	—	—	—	—
Ameisensäure . .	0,1 % hindert die Keimung, 0,025 % gleichgültig.	0,1% verhindert, 0,025 % verzögert.	—	—	—	0,1 % verhindert die Keimung, 0,025 % nicht mehr.	0,1 % verhindert die Keimung.
Formaldehyd . . .	—	0,01 % unschädlich, 0,1 % tötet, 0,01 % verzögert stark.	—	—	—	—	—
Methylalkohol . .	—	—	—	1 % ist förderlich.	5 % beeinflussen die Keimlinge erst nach 8 Tagen ungünstig.	—	—

und mittels eines zweiten, kurz unterhalb des Stöpsels endigenden zweiten Glasrohres hinausleiten. Tritt das Gas bei diesem Rohre, durch spezifische Reaktionen erkennbar, aus (CO_2 trübt Kalkwasser, O_2 läßt einen glimmenden Span aufflammen, H_2 entzündet sich und brennt mit heißer, nicht leuchtender Flamme, wobei natürlich mit dem Entzünden gewartet werden muß, bis alle Luft bzw. deren Sauerstoff mit Sicherheit verdrängt ist, N_2 bringt einen brennenden Span zum Erlöschen usw.), so ist die Glocke mit dem betreffenden Gase erfüllt. Handelt es sich auch hier um teilweise Sättigung oder Mischungen mehrerer Gase, so *mißt man die Menge des einströmenden Gases mit Hilfe des einfachen Gasmessers, welcher in der Medizin zur genauen Dosierung des Chloroforms in Gebrauch ist.* Ich pflege in der Weise vorzugehen, daß ich zunächst das *Volumen abmesse, welches durch eine oder eine Anzahl Blasen des betreffenden Gases gebildet wird.* Aus einem Gasentwicklungsapparat wird ein langsamer Strom des betreffenden Gases entwickelt und durch eine gewöhnliche Waschflasche bestimmter Röhrendimensionen geleitet, so daß die Blasengröße stets gleichmäßig ist (natürlich muß man sich vergewissern, daß aus der Waschflasche keine Luft mehr, sondern nur das betreffende reine Gas austritt). Die gezählten Gasblasen werden unter einer Sperrflüssigkeit in einem Eudiometer aufgefangen und so das Volumen gemessen, welches eine bestimmte Anzahl von Gasblasen einnimmt. Die Glocke wird zunächst mit einer gut ziehenden Saugpumpe, eventuell mit einer Quecksilberpumpe luftleer gemacht, wobei ein unter der Glocke befindliches oder vorgeschaltetes Manometer den Grad der Luftverdünnung angibt. Das lange Glasrohr der Glocke wird nun durch einen dickwandigen Kautschukschlauch mit der Waschflasche und diese mit dem Gasentwickler verbunden, der Schlauch ist ebenso wie der am kurzen Glasrohr der Glocke befindliche mit einem starken Quetschhahn abgeklemmt. Man läßt nun den Gasentwickler in Funktion treten, während der Schraubenquetschhahn des längeren Rohres so vorsichtig aufgedreht wird, daß Gasblase um Gasblase zählbar eintreten kann, wobei das unter der Glocke befindliche Manometer eine wünschenswerte Kontrolle über die Menge des eintretenden Gases liefert. Auf diese Weise ist es möglich, auch Mischungen von Gasen unter die Glocke zu bringen, indem man fallweise den Gasentwickler auswechselt und durch Abklemmen des Quetschhahnes für jeweiliges Absperren des Gasvolumens unter der Glocke sorgt. Natürlich muß die Gasentwicklung immer vorher in Gang gesetzt sein, bevor man die Verbindung mit der Glocke herstellt. Hat man eine verdampfende Flüssigkeit unter die Glocke gestellt, so kann man nach Abbruch des Versuches durch quantitative Bestimmung des zurückgebliebenen Restes der Flüssigkeit bestimmen, wieviel davon verschwunden ist, wobei zweckmäßig neben die Versuchsglocke mit den Pflanzen eine genau gleich große, genau ebenso adjustierte, nur ohne Pflanzen gestellt wird, so daß man die Menge des jeweils im Luftvolumen der Glocke befindlichen Gases als konstante Größe in Rechnung ziehen kann. Solche Versuche habe ich mit Formaldehyd angestellt und beobachtet, daß aus einem bestimmten Formaldehydquantum aus einer gleichen Flüssigkeitsmenge stets ein mit der Temperatur in proportionalem Verhältnis stehendes Quantum Formaldehyddampf ins Glockenvolumen entweicht[1]). Aus

[1]) V. Grafe und L. v. Portheim, Orientierende Untersuchungen über

5 ccm 4 proz. Formaldehydlösung wurden in die Luft einer 8000 ccm fassenden Glocke abgegeben: 0,013018 g bei 12 ⁰ C, 0,01324 g bei 15 ⁰ C, 0,017305 g bei 20 ⁰ C. Von Wichtigkeit bei solchen Versuchen ist auch, daß weder Keimschalen noch sonstige Gefäße, ferner auch das Keimbett, namentlich Erde nicht dampfabsorbierend wirken. Die Gefäße dürfen daher nicht aus porösem, sondern müssen aus glasiertem Ton oder am besten aus Glas bestehen, die Erde muß mit einem gasdichten Überzug, am besten Paraffin überzogen sein, welches den Vorteil mangelnder Affinität zu den meisten in Betracht kommenden Agenzien aufweist und in flüssigem, gießbarem Zustand auch empfindlichere Pflanzenteile nicht schädigt. In den Sigmundschen Versuchen wirkten die verwendeten Substanzen folgendermaßen auf die Keimung ein:

0,5 %ige Lösungen von	Keimprozent bei			
	Erbsen	Korn	Raps	Gerste
H_2O destilliert	100	90	100	—
KCl	100	100	100	—
NaCl	100	90	100	—
NH_4Cl	100	100	—	—
$CaCl_2 + 2\,H_2O$	100	90	100	—
$BaCl_2 + 2\,H_2O$	30	90	95	—
$SrCl_2$	40	90	100	—
$MgCl_2 + 6\,H_2O$	100	100	100	—
$K_4Fe(CN)_6 + 3\,H_2O$	100	80	100	—
$K_3Fe(CN)_6$	100	20	75	—
Chloralhydrat	100	70	100	—
Schwefelblumen	100	—	70	40
Kienruß	20	—	100	60
Zinkstaub	90	—	—	60
ZnO	100	—	—	80
$ZnCO_3$	60	—	70	20
MgO	20	—	—	50
$BaCO_3$	90	—	100	60
BaO_2	—	—	—	—
Zement	10	—	—	40

Es ist auffallend, daß ganz indifferente Stoffe, wie zerstoßener Schwefel, meist die Entwicklung verzögern und das Keimprozent herabsetzen; dies ist wohl auf Spuren schwefliger Säure zurückzuführen, ebenso wie Kienruß durch feine teerige Beimengungen schädlich wirkt. Dasselbe dürfte auch bei Tabakrauch der Fall sein. Die deletäre Wirkung von Zink und Eisen ist auf die sogenannte „oligodynamische Wirkung“ von Metallen zurückzuführen, während das an der Luft kaum veränderliche Antimon nicht schädlich ist; die höheren Metalloxyde sind schädlich, z. B. Pb_3O_4 als Mennige, während die niedrigeren wie PbO (Bleiglätte) unschädlich sind. Von den überaus schädlichen Superoxyden ist Braunstein noch am wenigsten bedenklich. Während in Schwefelkohlenstoff gelegene Samen nach 24 Stunden nicht wesentlich geschädigt sind, verhindern Schwefelkohlenstoffdämpfe ein nachheriges Keimen in reiner Luft vollständig. Ein ähnliches Verhalten zeigen die meisten organischen Substanzen. Sigmund hat eine große Reihe von Substanzen auf ihre Bedeutung für die Keimung untersucht, auf die

---

die Einwirkung von gasförmigem Formaldehyd auf die grüne Pflanze, Öst. bot. Zeitschr. 1909.

Einzelheiten kann aber hier nicht eingegangen werden. Bei der Untersuchung der Giftwirkung wurden bisher hauptsächlich die niederen Konzentrationen der Gifte untersucht, da man annahm, daß höhere Konzentrationen derselben natürlich ebenso deletär wirken müßten wie niedere. Die Kurve der Giftwirkungen ist aber keine so einfache: in kleinsten Dosen häufig die Keimung beschleunigend, schädigen die Gifte in steigender Dosierung, bzw. hemmen die Keimung bei bestimmter Konzentration vollständig. Behandelt man aber Samen mit noch stärker konzentrierten Giftlösungen, so sieht man die Beeinflussung wieder abnehmen. V. Arcichovskij[1]) zeigte, daß die stärksten Konzentrationen von desinfizierenden Stoffen für die Samen weniger giftig sind als die schwächeren Lösungen. Die ungequellten Samen wurden der Einwirkung des Giftes (Formalin, Silbernitrat, Schwefelsäure) durch 1 bis 256 Stunden unterworfen, dann in einem besonderen Apparat eine Stunde lang mit ca. 6 Litern fließenden, sterilisierten Wassers gewaschen und dann zum Keimen ausgelegt. *Der Waschapparat* (Fig. 7) bestand aus dem gläsernen Waschgefäß, das aus einem trichterförmigen unteren Teile *a* und einem Deckel geformt ist. Von *a* gehen die Röhren *b* für Zufluß und *p* zum Ablaufen des Waschwassers aus. Die Chamberlandkerze *b* dient zur Sterilisierung des Wassers mittels Filtration durch Ton; sie wird vom Gefäß *g* aus mit Wasser beschickt. Der ganze Apparat samt Filterkerze wird vor jeder Waschung im Autoklaven bei 120⁰ sterilisiert und dann das Waschgefäß in die Saatkamera gestellt.

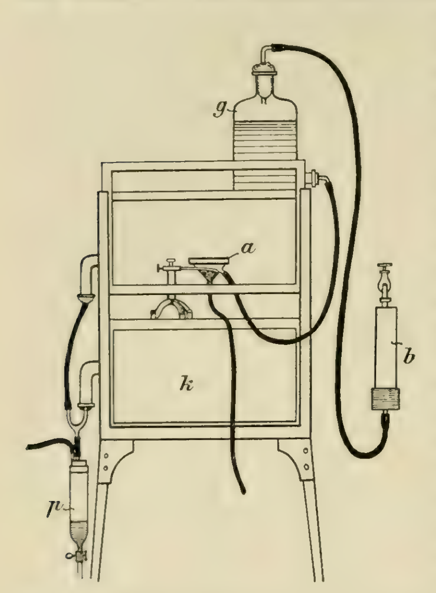


Fig. 7. Waschapparat nach Arcichovskij.

Dauer der Einwirkung Stunden	Formalinlösungen 1/8%	1/4%	1/2%	1%	2%	4%	8%	16%	32%	40%	Kontrolle
	Es keimten Prozente Samen										
1	100	100	100	100	86	86	73	88	92	100	100
2	100	86	71	74	31	26	36	75	87	96	100
4	80	44	24	—	—	—	—	16	84	82	100
8	76	24	—	—	—	—	—	—	60	88	100
16	20	—	—	—	—	—	—	—	60	72	100
32	—	—	—	—	—	—	—	—	32	72	100
64	—	—	—	—	—	—	—	—	—	46	76 } stehendes Wasser
128	—	—	—	—	—	—	—	—	8	28	— } stehendes Wasser
256	—	—	—	—	—	—	—	—	—	37,5	— } stehendes Wasser

Die Fälle der Nichtkeimung nach einer Aufbewahrung von 128 oder gar 256 Stunden unter Wasser oder Formaldehyd haben nichts mit einer Giftwirkung zu tun, sondern sind auf Mangel an Sauerstoff

[1]) V. Arcichovskij, Biochemische Wirkung höchst konzentrierter Lösungen, Biochem. Zeitschr. 50, 233 (1913).

zurückzuführen, während fließendes, sauerstoffreiches Leitungswasser nach dieser Zeit nicht nur nicht schädigend wirkt, sondern das Keimen beschleunigt. Fließendes Wasser ist überhaupt ein ausgezeichnetes Keimungsmittel für größere Samen. Eine Glasschale von 10 cm Durchmesser wird unter einen dünnen, aber ziemlich kräftigen Wasserstrahl gestellt, der ins Zentrum der Schale gerichtet wird und die Samen gleichmäßig bis zum Rande der Schale zurückstößt, wo sie sich in ununterbrochener Wirbelbewegung befinden. So geht die Keimung gut vor sich, und die Samen sind überdies während relativ langer Zeit vor Fäulnis geschützt, allerdings verbraucht diese Versuchsanstellung viel Wasser (150 l Wasser täglich für einen Versuch). Ganz analog wie unter der Einwirkung von Formalin sind auch die Ergebnisse mit verschieden konzentrierter Schwefelsäure.

Schwefelsäure in Konzentrationen von	$\frac{n}{128}$	$\frac{n}{32}$	$\frac{n}{8}$	$\frac{n}{4}$	$\frac{n}{2}$	n	$2n$	$4n$	$8n$	$16n$	$32n$	spez. Gew. 1,84
Prozentsatz gekeimter Samen	94	92	76	48	24	49,5	24.5	92	100	100	96	100

Allerdings zeigt sich in allen diesen Fällen die Keimung mehr oder weniger verzögert, die Resistenz gegen die Mikroorganismen herabgesetzt. Fischer)[1] setzt auseinander, daß die gut gereiften Samen vieler Wasserpflanzen ohne äußeren Anstoß überhaupt nicht keimen, selbst wenn die Keimungsbedingungen noch so günstig sind. Solche Erfahrungen wurden gemacht mit Sagittaria sagittifolia, Alisma Plantago, Potamogeton natans, lucens und pectinatus, Hippuris vulg., Polygonum amphibium, Scirpus lacustris und maritimus. Wenn aber z. B. Bakterien die Keimflüssigkeit ansäuern, dann keimen diese Samen. Im weiteren Verlaufe zeigte sich, daß die H-Ionen der Säuren und OH-Ionen der Basen kräftige Keimungsreize bilden, und zwar ganz entsprechend dem Ionisierungsgrad der betreffenden Lösung. Die Wirkung der H- und OH-Ionen wird durch das Kation bzw. Anion der angewendeten Verbindung mehr oder weniger beeinflußt, wozu noch Temperatur und Dauer der Einwirkung kommen. Wie explosiv Säure auf ruhendes Protoplasma wirkt, zeigt folgende Tabelle. Die Samen wurden mit 10 Mol. HCl bei 20 ° C behandelt und nach guter Spülung mit Leitungswasser bei 25—27 ° C zum Keimen aufgestellt.

	Behandlung mit Säure					
	1/2 Minute	1 Minute	2 Minuten	4 Minuten	8 Minuten	10 Minut.
Zahl der Samen	357	312	331	376	382	400
Gekeimt nach 13 Tagen	63	116	213	10	1	—
In Prozenten	18	37	64	2,7	0,3	—

Die Reizung durch H- oder OH-Ionen verändert aber auch den Charakter der Keimung. Bei letzterer bleiben die Keimlinge etwas länger farblos und auf einer Größe von 2—5 mm stehen, bei H-Reizung wachsen die Keime etwas schneller und ergrünen auch rascher. Läßt man der ersten Ionenbehandlung eine Behandlung mit dem zweiten Ion folgen, so findet wohl gewissermaßen eine Neutralisierung der ersten Behand-

[1]) A. Fischer, Wasserstoff- und Hydroxylionen als Keimungsreize. Ber. d. d. bot. Ges. **25**, 108 (1907).

lung statt, gleichzeitig wird aber auch der zweite Keimungsmodus eingeleitet und setzt sich durch.

Gut studiert ist auch die „oligodynamische“ Wirkung (Nägeli) von Metallsalzspuren; so wurde beobachtet, daß Keimwurzeln in Wasser, welches aus Metallapparaten destilliert worden war, nicht weiterwuchsen, wohl aber trat normale Entwicklung ein, wenn das Wasser aus Glas umdestilliert worden war. Silber, Blei, Zinn erteilen übrigens dem Wasser keine schädliche Wirkung, wohl aber Kupfer; schon 1—2 Zehnmillionstel Kupfergehalt soll zur Hemmung des Wachstums ausreichen; das beruht auf dem merkwürdigen Speicherungsvermögen, welches die Pflanzenzellen für die Salze von Schwermetallen zeigen, welches Speicherungsvermögen ja bei einigen Pflanzenarten (Galmeiveilchen für Zinksalze, Polycarpaea spiriostylis enthält Kupfer bis zu 560 mg im Kilo Trockensubstanz und wird in Nordqueensland „copperplant“ genannt, weil aus ihrem Vorkommen auf die Anwesenheit von Kupferablagerungen im Boden geschlossen wird; in neuerer Zeit konnte Molisch bei Wasserpflanzen so intensive Eisen- und Manganspeicherung nachweisen, daß die betreffenden Pflanzen nicht grün, sondern braun erschienen) ganz besonders ausgeprägt ist. Die große Empfindlichkeit der Pflanzen gegen Quecksilberdämpfe wird gewöhnlich viel zu wenig beachtet, man sollte dieses Metall nie zu Abschlüssen von Glocken wählen, unter denen Pflanzen vegetieren, ohne mindestens für eine über das Quecksilber gebreitete Flüssigkeitsdecke, am besten Glyzerin, zu sorgen. Über die Wirksamkeit von Dämpfen wurde bereits gesprochen, Ammoniakdampf hemmt bereits in einer Verdünnung 1 : 24 000 die Keimung von Vicia Faba, zu 1 : 20 000 jene von Phaseolus vulg. und Zea Mais, 1 : 5000 die von Liliaceenzwiebeln. Becker (l. c.) konnte zeigen, daß die Keimung der Scheibenfrüchte von Dimorphotheca pluvialis durch Vorbehandlung mit 0.3 Mol. HNO_3 verzögert, die der Randfrüchte ganz gehemmt wurde, dagegen wirkte Knopsche Nährlösung beschleunigend und hob auch die hemmende Wirkung der Salpetersäure bei den Randfrüchten fast ganz auf; dagegen wirkt bei Atriplex hortensis Vorbehandlung mit 0,3 Mol. Salpetersäure keimungsfördernd. Lehmann und Ottenwälder [1]) haben gefunden, daß Salzsäure bei bestimmter Konzentration und geeigneter Temperatur eine Keimung der Samen von Epilobium hirsutum und Lythrum salicaria ermöglicht, wo die Keimung ohne Salzsäure, also auf destilliertem Wasser, nicht ausgelöst wird. Die optimale Säurekonzentration schwankt mit der Samenart und der Temperatur, sie ist zumeist ziemlich niedrig zwischen 0,00625 und 0,05 Mol. Ob Salzsäure als Keimungsreiz oder als Gift wirkt, hängt abgesehen von den bereits erwähnten Umständen auch sehr von der Versuchspflanze ab, so pflegen Kruziferen und Kompositen auch durch minimalste Salzsäuremengen schon getötet zu werden. Baar fand in 0,5—1 proz. Salzsäure ein Mittel, um die Ruheperiode der Samen von Amarantus retroflexus abzukürzen. Diese Samen werden im Herbst reif, keimen aber erst im nächsten Frühjahr. Mit verdünnter Salzsäure oder Phosphorsäure dagegen behandelt, keimen sie schon im Oktober, aber nur im Dunkeln,

[1]) E. Lehmann und A. Ottenwälder, Über katalytische Wirkung des Lichtes bei der Keimung lichtempfindlicher Samen. Zeitschr. f. Bot. 5, 337 (1913). — G. Lehmann, Über die Beeinflussung lichtempfindlicher Samen durch die Temperatur. Zeitschr. f. Bot. 4, 465 (1912).

im Lichte sind sie auch dann nur zu äußerst geringem Prozentsatz zur Keimung zu bringen.

Ohne Zutritt von Luft oder besser gesagt von Sauerstoff ist keine Keimung möglich. Wenn Samen unter Wasser liegen, so keimen sie hauptsächlich deshalb nicht, weil sie an Sauerstoffmangel leiden, und nur solche Körner, welche etwa obenaufschwimmen, vermögen zu keimen; ebensowenig findet eine Keimung bei Samen von Wasserpflanzen in ausgekochtem (luftfreiem) Wasser statt oder aber wenn das Wasser durch eine Ölschicht abgesperrt wird. Das ist auch nicht wunderzunehmen, da ja die Keimung ein Wachstumsprozeß ist, bei welchem große Energiemengen aktiviert werden müssen, die durch intramolekulare Prozesse nicht aufgebracht werden können. Natürlich kann auch in einem indifferenten Gase wie Wasserstoff oder Kohlensäure keine Keimung stattfinden und in eine Glasröhre eingeschmolzene, gequellte Samen keimen gleichfalls nicht. Wir haben schon davon gesprochen, daß in fließendem Wasser, also bei fortdauernder Sauerstoffzufuhr, sehr lebhaft Keimung erfolgt; die Lufträume des Samengewebes vermögen soviel Sauerstoff einzuschließen, daß die erste Anregung zur Keimung des von der Samenhülle festumschlossenen Samens durch diesen Sauerstoff gegeben wird. Deshalb kann die Keimung verhindert werden, wenn die Samen unter Wasser getaucht und unter der Luftpumpe von Luft befreit werden, wobei die Lufträume durch Wasser erfüllt sind; wenn dann auch das Keimprozent unter Umständen keine Beeinträchtigung erfährt, so wird doch die Keimzeit wesentlich verlängert. In einzelnen Fällen kann aber auch hier eine Beschleunigung der Keimung durch das Entfernen der Luft gegeben sein, wie bei der bespelzten Gerste, der Sonnenblume, dem Roggen. Überhaupt kann ein Zuviel an Sauerstoff ebenso die Keimung beeinträchtigen wie ein Zuwenig. So keimen Bohnen in reinem Sauerstoff nur langsam und erzeugen kränkliche Keimlinge, die ein abnormes Aussehen zeigen. Bei Zea Mays, Ervum Lens, Pisum sativum gelangte in Böhms Versuchen die Entwicklung der Embryonen nicht über die ersten Stadien der Wurzel- und Stengelbildung hinaus und selbst Gasgemische mit einem hohen Prozentsatz an Sauerstoff wirken schädlich; erst wenn der normale atmosphärische Partiärdruck des Sauerstoffes erreicht ist, treten normale Keimungsbedingungen ein: in diesem Falle schädigt auch rein dargebotener Sauerstoff nicht. Demnach wird die Keimung sowohl im luftverdünnten Raume als auch bei atmosphärischem Überdruck gehemmt, das Minimum des Luftdruckes, bei dem Keimung überhaupt noch erfolgt, ist 120 mm Quecksilber für Kresse, 60 mm für Gerste. Praktische Bedeutung hat dieser Umstand bei Keimungsversuchen bezüglich des mehr oder minder tiefen Einbringens der Samen unter die Erde. Werden die Samen zu tief gesteckt und bildet das Keimbett über ihnen eine allzu feste Kruste, so kann die Sauerstoffzufuhr, besonders in einem festgestampften Boden des Keimgefäßes, so gehemmt sein, daß aus diesem Grunde keine Keimung erfolgt. Auch bei der Sauerstoffwirkung sind aber mehrere Momente maßgebend: so fand Becker[1]) bei den Früchten von Dimorphotheca pluvialis eine ausgesprochene Förderung der Keimung im Sauerstoff gegenüber jener in Luft, und zwar erschienen die Randfrüchte relativ mehr gefördert als

[1]) H. Becker, Über die Keimung verschiedenartiger Früchte und Samen bei derselben Spezies, Beih. z. bot. Zentralbl. 29, 21 (1912).

die Scheibenfrüchte. Was die Einwirkung des elektrischen Stromes auf die Keimung anlangt, so sind wohl nach dieser Richtung zahlreiche Versuche gemacht worden, ohne daß aber — wenigstens in den meisten Fällen — die nötige Exaktheit dabei zur Anwendung kam. Vor allem hat man erst in neuester Zeit daran gedacht, die Stärke des verwendeten Stromes zu beachten, wiewohl Versuche über Elektrokultur schon seit zwei Jahrhunderten angestellt werden. Ferner hat man die Nebenumstände, wie Temperatur, Feuchtigkeit, Substrat usw., niemals in Rechnung gezogen und vor allem der Individualität der Pflanze keine Beachtung geschenkt. Daß aber alle diese Momente berücksichtigt werden müssen, beweist schon der Umstand, daß bald eine fördernde, bald eine schädigende Wirkung des elektrischen Stromes gesehen wurde.

Gaßner[1]) ging in der Weise vor, daß er die zu behandelnden Samen in Blumentöpfen mit gut gemischter Gartenerde möglichst gleichmäßig auslegte und *kurz vor dem Auflaufen der Pflanzen mit der elektrischen Behandlung begann.* Hierzu wurden die Töpfe in einzelne durch Glasplatten oder Pappe gebildete Zellen gestellt und mit der Erde leitend verbunden. In verschiedenen Abständen (8—60 cm) hingen über den Töpfen an Glasstäben isolierte Nadeln mit der Spitze nach unten; da je nach der Form der Spitze die in die Luft ausströmende Elektrizitätsmenge eine verschiedene ist, wurden die sehr gleichmäßigen Grammophonnadeln für diesen Zweck verwendet. Der eine Pol der betreibenden Influenzmaschine wurde mit der Erde, der andere mit den über den Pflanzen aufgehängten Nadeln verbunden. Die elektrische Behandlung (14 Stunden täglich) ließ bei Pisum sativum und Helianthus annuus nach 14 Tagen keinen Unterschied mit der Kontrolle wahrnehmen, dagegen trat bei Gerste eine sichtliche Förderung ein, was sich zunächst im früheren Durchstoßen des ersten Laubblattes durch das Keimblatt zeigte; die Wachstumsförderung hält auch später an und besteht nicht nur in einer Steigerung der Assimilationsfähigkeit der Pflanze, denn sie zeigt sich auch im Dunkeln. Gaßner stellte fest, daß in den elektrisierten Töpfen bedeutend mehr Wasser verdunstet wurde, rund das Sechsfache von dem in den Kontrollgefäßen; die Transpiration ist bedeutend erhöht und zwar auch rein physikalisch dadurch, daß während der Elektrisierung ständig ein intensiver Luftstrom unmittelbar an der Oberfläche der Pflanze vorhanden ist. Eine Steigerung der Transpiration bewirkt aber naturgemäß ein schnelleres Aufsaugen der Nährsalze und wirkt somit als Reiz auf die Wachstumsintensität wie überhaupt auf die physiologischen Prozesse in der Keimpflanze. Lemström gibt übrigens auch den Rat, während der heißen Mittagsstunde die elektrische Behandlung zu unterlassen, weil sie dann schädlich wirke (der doppelte Wasserverlust durch starke Besonnung und „elektrischen Wind" muß zu Schädigungen der Pflanze führen) und teilt mit, daß starke Erntesteigerungen durch elektrische Behandlung sich nur bei gleichzeitiger, ausgiebiger Bewässerung erzielen lassen.

Wenn man einen *elektrischen Strom durch den Boden leiten und auf diese Weise die Pflanzen beeinflussen will,* kann man in den Boden Metall- oder Kohlenelektroden einsenken, so daß die zu behandelnde Pflanze zwischen die beiden Platten zu liegen kommt; die in den Boden

[1]) G. Gaßner, Zur Frage der Elektrokultur. Ber. d. d. bot. Ges. **25**, 26 (1907).

gesteckten Elektroden können auch gleichzeitig zur Stromerzeugung benutzt werden, wenn man einerseits eine Zink-, anderseits eine Kupferplatte wählt und diese durch einen gegen den Boden isolierten Draht oberirdisch verbindet. Der Stromkreis des Kupfer-Zinkpaares wird durch den Draht geschlossen und ein schwacher Strom durchfließt den Boden, welcher aber allerdings so schwach ist, daß er kaum nachgewiesen werden kann; Pflanzen zeigen sich auch durch solche Ströme gewöhnlich nicht im geringsten beeinflußt. Sehr ansehnliche Ströme erzeugt man aber, wenn die Platten nur zur Einführung des Stromes, welcher von einer Dynamomaschine erzeugt wird, in den Boden dienen oder wenn man die Platten einfach mit der Lichtleitung verbindet. Je näher die Elektroden gesteckt werden, je höher die Spannung ist, desto stärker ist der Strom; gewöhnlich beobachtet man dann, daß sich die Wurzeln dem positiven Pol zu krümmen, weil die dem positiven Pol, der Eintrittsstelle des Stromes zugewendete Wurzelhälfte geschädigt wird, während die dem negativen Pol zugewendete zunächst weiterwächst und normal bleibt. Sehr wichtig für elektrische Keimungsversuche ist nach R. Löwenherz [1]) die Lage der in den Kulturtöpfen befindlichen Körner zum Strom. Liegen die Körner rechtwinkelig zur Stromrichtung, dann pflegt häufig, auch bei Verwendung starker Gleichströme, eine schädigende Wirkung auszubleiben, während im Falle die Samen in der Stromrichtung liegen, also der Länge nach vom Strome durchflossen werden, gewöhnlich ein Auflaufen überhaupt unterbleibt. Man kann aber auch in diesem Falle die schädigende Wirkung aufheben, wenn man nicht Gleichstrom verwendet, sondern die Richtung des elektrischen Stromes zweimal in der Minute umkehrt, während ein Wechsel der Richtung 2—3 mal innerhalb 24 Stunden nicht genügt. In den Fällen, wo nicht die Lichtleitung zur Verfügung stand, verwendete Löwenherz zwei hintereinander geschaltete Tauchbatterien von je 5 Chromsäure-Elementen und geringem inneren Widerstand. Die beiden Batterien wurden hintereinander geschaltet, wodurch eine Batterie von 10 Elementen mit einer Klemmenspannung von durchschnittlich 15 Volt erhalten wurde. In die Gläser der Elemente wurden zunächst nur etwa 100 ccm der Chromlösung getan, und wenn die Klemmenspannung anfing abzunehmen, von Zeit zu Zeit neue Chromsäure aufgefüllt. Waren die Gläser voll, so wurde mit der Pipette etwas von der alten Lösung weggenommen und durch neue Chromsäurelösung ersetzt. Es genügte, zweimal täglich je 50 ccm Lösung durch neue zu ersetzen, um die Klemmenspannung der Batterien auf 15 Volt zu erhalten. Nach dem Begießen der Kulturen steigt die Stromstärke bedeutend, ja sie kann gegenüber dem bei trockener Erde erzielten den doppelten Wert erreichen. Versuchspflanze war Gerste, die Töpfe waren 22 cm hoch und hatten oben einen inneren Durchmesser von 23 cm, als Elektroden wurden ein Paar Kohlenplatten in den Topf hineingesteckt, in den Klemmschrauben derselben war ein Stück blanken Kupferdrahtes festgeschraubt, das an den Leitungsdrähten befestigt war. Obzwar die Stromstärke pro Topf im Maximum nur ungefähr 0,015 Ampère betrug, wurde doch, wenn die Samen, die vom Strom durchflossen waren, in der Stromrichtung lagen, das Auflaufen der Samen verhindert oder erschienen wenigstens die zur Ent-

---

[1]) R. Löwenherz, Versuche über Elektrokultur, Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **15**, 137 (1905).

wicklung gelangten Keimlinge geschädigt. Die Kohlenplatten waren 13 cm lang und steckten ca. 6 cm tief in der Erde, die wirksame Elektrodenfläche war also $13 \times 6 = 78$ qcm groß; bei der Stromstärke von 0,015 Ampère pro Topf ist die Stromdichte höchstens 0,0002 Ampère pro qcm in der Nähe der Elektroden, in der Mitte des Topfes noch etwas geringer; ein Strom von weniger als 0,0002 Ampère verhindert also mehr minder das Wachstum der Gerste. Den Befund von Löwenherz, daß Wechselstrom genügender Intensität eine wachstumsfördernde Wirkung ausübt, konnte Gaßner nicht bestätigen und weist mit Recht darauf hin, daß man beim Durchleiten des Stromes durch die Erde auch dessen Wärmewirkung beachten muß, denn die elektrisierten Töpfe erhitzen sich bei größeren Stromstärken auf 10—20 ⁰ über die Temperatur der nichtelektrisierten, es ist aber nicht auf die Rechnung einer günstigen Wirkung des elektrischen Stromes zu setzen, wenn Gerste bei 25 ⁰ schneller keimt als bei 10 ⁰. Ferner ist, wenigstens bei Verwendung von Metallelektroden, nicht genügend darauf geachtet worden, daß diese von der feuchten Erde sehr rasch angegriffen werden und daß schon Spuren von Metallverbindungen äußerst schädlich auf das Wurzelwachstum wirken. Dagegen hebt Gaßner eine indirekte günstige Wirkung des Stromes hervor: Wechselströme wirken auf tierische Pflanzenschädlinge des Bodens, z. B. Engerlinge, tötend ein, während sie für die Pflanze indifferent sind; es gelingt also, die Engerlinge zu töten, ohne die Pflanze zu schädigen.

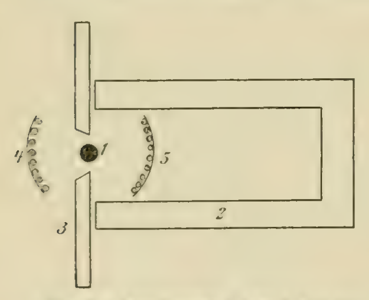


Fig. 8. Anordnung Congdons zur Einwirkung von Radiumstrahlung auf Samen.
1 = Radiumröhrchen; 2 = Bleiplatte; 3 = Aluminiumschirm; 4, 5 = Samen.

Über den Einfluß der Radiumstrahlung auf die Keimung liegen erst wenige Erfahrungen vor, es scheint, daß durch die Einwirkung der Radiumsalze und die Emanation das Auflaufen sehr gehemmt wird. Über die Abkürzung der Ruheperiode und über den Einfluß auf Keimpflanzen wird später einiges gesagt werden.

Congdon[1]) verwendete die Hälfte der Strahlung eines 8 mg metallischen Radiums *in Form des Chlorids enthaltenden Glasröhrchens zur Erzeugung von Sekundärstrahlen, während die andere Hälfte direkt auf die Samen wirken konnte.* Das Glasröhrchen (Fig. 8) war hinreichend dünnwandig, um den größten Teil der β- und γ-Strahlen durchzulassen, während die α-Strahlen nicht herausdringen konnten. Die einen Samen waren 1 cm von dem Radiumröhrchen außerhalb des Bleirohres angebracht und erhielten bloß die direkte primäre Strahlung des Radiums. Dagegen waren die innerhalb des Bleirohres 1 cm vom Röhrchen befestigten Samen sowohl der Einwirkung der Primärstrahlen (der schnellen Elektronen) als auch der langsamen Elektronen von seiten der Sekundärstrahlung ausgesetzt, welche beim Anprall der Primärstrahlung an die Innenwand der Bleiröhre ausgelöst wird. Ein Schirm aus Aluminium, Holz und Gummi schützte die Samen außerhalb des Bleirohres vor einer merklichen Einwirkung zerstreuter Strahlung. Messungen der Ionisation an den Punkten, an welchen die beiden Gestelle mit den Samen

[1]) E. D. Congdon, Die Beeinflussung des Wachstums von Samen durch β-Strahlen, Sitz. Ber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien 120, Abt. II a (1911).

angebracht waren, zeigten, daß der Effekt innerhalb der Bleiröhre wegen der hinzukommenden Sekundärstrahlung um 25 % größer war als außerhalb. Die Samen wurden auf paraffiniertem Seidenpapier alle in der Entfernung 1 cm vom Radiumpräparat befestigt. Es wurden stets Samenkörner von mittlerem Durchmesser gewählt und in getrocknetem Zustande exponiert. Ein Vergleich der Verzögerung der Keimung bei Senfsamen und Hirse mit und ohne Samenhülle (11,6: 31,5 % bzw. 16,9: 32,7 %) zeigte, daß die Samenhülle die Strahlung hinlänglich absorbiert, um den Effekt bedeutend herabzumindern, der aber immer in einer beträchtlichen Verzögerung der Keimung besteht. Ein sehr markanter Unterschied zeigte sich auch, je nachdem der Keim des Samenkornes der Strahlungsquelle zugekehrt oder vor ihr durch den vorstehenden Teil des Samens geschützt war. Die prozentualen Verzögerungen betrugen: Sinapis ohne Hülle: Keim zugekehrt 36 %, Keim abgewendet 25 %; Panicum ohne Hülle: Keim zugekehrt 36,8 %, Keim abgewendet 28,6 %; Panicum mit Hülle: Keim zugekehrt 24,6 %, Keim abgewendet 9,2 %. Die Keimungsverzögerung ist ferner der Größe des Samens verkehrt proportional; dagegen spielt die chemische Beschaffenheit der Reservestoffe scheinbar keine Rolle bei Bestimmung der Samenempfindlichkeit den β-Strahlen gegenüber, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht:

	Durchmesser in mm	Dicke der Samenhülle in mm	Stärkegehalt	Fettgehalt	Prozentuale Wachstumsverzögerung
Panicum ohne Samenhülle	0,60	—	45 %	—	32,7
Sinapis ohne Samenhülle	0,67	—	25 %	25 %	31,0
Papaver	0,26	0,003	—	40 %	55,0
Nicotiana	0,26	0,003	—	—	55,0
Amarantus	0,40	0,007	Rosastärke	—	19,0

Langsame Elektronen haben eine weitaus größere Wirkung als schnelle Elektronen von gleicher ionisierender Wirkung. Körnicke[1]) verwendete für seine Versuche 5 und 10 mg in *Glasröhrchen eingeschlossenes Radiumbromid* und Samen von Vicia Faba, die eben zu keimen begonnen hatten und sich in einem mit feuchtem Sägemehl gefüllten Blumentopf befanden. An jedem Samen war auf der Embryoseite ein Radiumröhrchen (10 mg) angebracht, und zwar so, daß sich das untere Ende, in dem das $RaBr_2$ lag, dicht neben der zunächst weiter wachsenden Wurzelspitze befand. Vier Tage lang dauerte die Bestrahlung der Wurzelspitze, die Wurzeln zeigten Wachstumshemmung und Schädigung. Ein trockener Samen von Vicia Faba war 24 Stunden mit 10 mg $RaBr_2$ bestrahlt gewesen, kam dann zwei Tage in Wasser von 26° C und darauf in Sägemehl. Nach einem Tage begann die Wurzel hervorzutreten, blieb aber am zweiten Tage der Keimung auf einer Länge von 20 mm stehen, verfärbte sich bräunlich und am 17. Tage nach diesem Wachstumsstillstande brachen aus dem inzwischen 75 mm lang gewordenen Epikotyl Adventivwurzeln hervor, während Hauptwurzel und später

[1]) M. Koernicke, Die Wirkung der Radiumstrahlen auf die Keimung und das Wachstum. Ber. d. d. bot. Ges. **22**, 155 (1904). — Weitere Untersuchungen über die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf die Pflanze. Ebendas. **23**, 324 (1905).

auch die Sproßspitze zu faulen begannen. Ähnliche Ergebnisse zeigten auch Erbsen und Bohnen, selbst wenn die Bestrahlung nur neun Stunden gedauert hatte; ferner wenn die Samen erst mehrere Tage nach erfolgter Bestrahlung des trockenen Samens zum Quellen angesetzt oder in gequollenem Zustand bestrahlt worden waren; Bestrahlung aus einer Entfernung von 4 cm schien nicht mehr wirksam, wohl aber aus 2 cm. Besonders resistent erwiesen sich die Samen von Brassica Napus, indem hier eine dreitägige Bestrahlung mit 10 mg $RaBr_2$ die Keimung und Weiterentwicklung nicht störte, ja gequollen bestrahlte Samen zeigten sogar eine Beschleunigung in der Keimung; diese Resistenz zeigte sich auch bei Samen, deren Schale teilweise entfernt war; die Keimlinge der an der entblößten Stelle bestrahlten entwickelten sich so wie die Keimlinge der Samen, welche an nicht entblößten Stellen bestrahlt gewesen waren. Erst nach 10 tägiger Bestrahlung des trockenen Samens erwies sich dieser in der Keimung zurückgehalten und in der Weiterentwicklung gehemmt.

Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf die Keimung liegen gleichfalls Versuche von Koernicke[1]) vor. Gequollene Bohnensamen wurden in feuchtem Sägemehl zum Keimen gebracht, nach drei Tagen Exemplare mit gleich langen Wurzeln ausgesucht und in einen mit Sägemehl gefüllten Sachsschen Keimkasten Fig. 11 gebracht. Eine der beiden geneigten Glasscheiben wurde durch eine Holzplatte ersetzt. In den Kasten wurden nun, der Holzplatte genähert, zwei Reihen von je sechs Keimlingen gepflanzt, und zwar so, daß die sechs rückwärtigen Exemplare hinter den Räumen sich befanden, welche die sechs vorderen zwischen sich ließen. Durch eine hölzerne Querwand wurde dann der Kasten in zwei Abteilungen mit je sechs Keimlingen geteilt; der vor der einen Hälfte befindliche Teil der äußeren Holzplatte erhielt eine Bleibedeckung zur Absorption der auf diese Kastenhälfte wirkenden Röntgenstrahlen. Auf den so vorgerichteten Kasten wirkten nun von der geneigten Holzplatte her die Röntgenstrahlen. Die Bestrahlung wurde so lange fortgesetzt, bis ein neben die Objekte der ersten, d. h. der Röntgenröhre näheren Reihe vorher gebrachter Holzknechtscher Reagenzkörper das Bestrahlungsmaß von 24 H. Einheiten und ein in der zweiten Reihe befindlicher die Farbenintensität aufwies, die 20 H. E. zukommt. Die Strahlen wirken hemmend auf das Wachstum ein, aber auch hier zeigt sich zunächst keine Schädigung, vielmehr sogar primär eine Wachstumsbeschleunigung und erst nach einiger Zeit zeigt sich Stehenbleiben des Wachstums als physiologische Nachwirkung; der Zeitpunkt des Eintretens dieser Nachwirkung ist abhängig vom Objekt und seinem physiologischen Zustande im Momente der Bestrahlung. Besonders widerstandsfähig erwiesen sich die Samen von Brassica Napus, die bei einer Strahlungsintensität, welche bei Vicia Faba sehr schwer gewirkt hatte, noch keine Hemmung erlitten. Bei genügend schwacher Einwirkung ist die Wachstumshemmung eine vorübergehende, eine Aufhebung der Keimkraft von trockenem wie gequollenem Samen wird selbst nach zweimaliger Bestrahlung mit über 20 H. E. nicht erreicht. Wurden die trockenen Samen mit über 20 H. E. bestrahlt und dann bei 26 ° C in Wasser zum Quellen gebracht, so zeigte sich bei den Samen von Vicia Faba und Brassica Napus, be-

[1]) M. Koernicke, Über die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf den pflanzlichen Organismus. Ber. d. d. bot. Ges. 22, 148 (1904).

sonders auffällig bei den letzteren, eine Wachstumsbeschleunigung (von 100 Exemplaren war nach einem Tage schon die Hälfte gekeimt, von den Kontrollsamen nach dieser Zeit erst einer und die Hälfte erst nach drei Tagen), die aber mit der Zeit wieder ausgeglichen wurde. Bei Bestrahlung von vorher gequollenen Samen ergab sich dagegen keine Beschleunigung, dagegen nach zwei Tagen ein Stehenbleiben des Wachstums bei Vicia Faba, während V. sativa und Brassica Napus weiterwuchsen.

Für orientierende Versuche über die Keimung eignen sich besonders die Samen von Phaseolus vulg., Zea Mays, Helianthus annuus, Cucurbita Pepo. Um schöne Wurzelhaare zu erzielen, verwendet man mehrere Getreidearten wie Gerste, ferner Mais, Raphanus sat. Zum Studium der Etiolementerscheinungen eignen sich besonders die Gramineen, wie Hafer; kräftige Hauptwurzeln erzielt man bei Vicia Faba und Cucurbita.

II. Die Keimpflanze.

Erscheint bei dem im Keimbett angekeimten Samen das Würzelchen und ist dieses einige Millimeter lang geworden, so kann der Samen in das Medium übertragen werden, in welchem die Pflanze ihre weitere Entwicklung durchmachen soll (Fig. 9), also entweder in ein festes oder flüssiges Substrat. So wenig empfindlich der Samen im ruhenden Zustand gegen



Fig. 9. Vier aufeinanderfolgende Stadien der Entwicklung der Keimpflanzen von Helianthus annuus. im ersten Topf sind die Keimblätter noch vom Perikarp umschlossen, das bei zunehmender Entfaltung immer mehr zur Spitze rückt, bis es schließlich abgeworfen wird. (Dieses Bild verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn L. v. Portheim, Leiters der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

die Einwirkung äußerer Faktoren sich gezeigt hat, so sehr ist es die junge Keimpflanze und sie muß deshalb mit der größten Vorsicht behandelt werden. Verwendet man ein festes Substrat, so wird gewöhnliche Gartenerde gute Dienste leisten; die Erde wird in einem groben Sieb von allzufesten Stücken befreit, locker in den unglasierten

Blumentopf aufgeschüttet, dessen untere Öffnung eine Tonscherbe zum Zwecke der Drainage trägt. Die Erde wird nun mittels einer Brause angefeuchtet, wobei man zweckmäßig mit einem Holzstab in die allmählich zusammenklebende Erde Löcher stößt, welche ein schnelles Eindringen des Wassers in die Tiefe bewirken; der Topf steht auf einem Wasser enthaltenden Untersatz. Mit einem Holzstäbchen werden nun kleine Öffnungen in die Oberfläche des Erdreichs gestoßen und das Würzelchen so hineingesteckt, daß der Samen von Erde halb bedeckt ist. Ebenso wie es zweckmäßig war, nicht zu viele Samen in einer Keimschale auszulegen, weil die gegenseitige Entwicklung dadurch gehemmt ist, so ist es auch nicht empfehlenswert, besonders für länger dauernde Versuche, allzu viele Pflanzen in einem Blumentopf unterzubringen, der Abstand der einzelnen Samen voneinander soll mindestens 2 cm betragen. Will man eine Kontrolle über die der Pflanze zur Verfügung stehenden Mineralstoffe haben und dabei doch in festem Substrat arbeiten, so empfiehlt es sich, feinen Seesand zu nehmen, der zum größten Teil aus Quarz besteht und diesen mit Leitungs- oder Brunnenwasser oder mit einer der später zu besprechenden Nährlösungen zu begießen. Für genauere Versuche genügt aber der Seesand nicht, sondern man bedient sich reinsten Quarzsandes, der mit Königswasser gewaschen war; ich habe übrigens gelegentlich die Erfahrung gemacht, daß „reinster“ käuflicher Quarzsand noch immer Nährstoffe an die Pflanze abgeben kann, und es empfiehlt sich daher, den käuflichen Quarzsand selbst in Porzellangefäßen (unter gut ziehendem Abzug) mit einem Gemisch von Salzsäure und Salpetersäure 3 : 1 mehrere Stunden auszukochen und den abgepreßten Sand mit heißem Wasser so lange durchzurühren und immer wieder abzupressen, bis ein Tropfen des Waschwassers mit Silbernitrat keinen Chlorsilberniederschlag mehr ergibt. Wie schon erwähnt, ist es mitunter (bei der Einwirkung gasförmiger Agenzien auf die Keimpflanze) notwendig, die absorbierende Wirkung des Topfes und des Substrates auszuschließen: man verwendet dann glasierte Töpfe ohne Drainageöffnung oder Glasküvetten (beide haben sich in meinen Versuchen sehr bewährt, und ich habe niemals mit Schwierigkeiten der Bewässerung oder des Sauerstoffmangels zu kämpfen gehabt); die Erde wird entweder mit Stanniol (mitunter ergibt bleihaltiges Stanniol Schädigungen, in der Regel aber ist das käufliche Stanniol sehr verwendbar) oder mit Aluminiumfolie überdeckt; am besten ist es, einen dünnen Überguß von niedrig schmelzendem Paraffin zu verwenden; hochschmelzendes hat den Nachteil, sich leicht von den Glas- oder Tonwänden des Gefäßes abzuheben und zu klaffen; auch darf man das Paraffin nicht vollständig erstarren lassen, sondern muß noch während es halbweich ist, mit der Nadel die Löcher zum Durchstecken des Würzelchens einbohren, weil man sonst leicht beim Herausziehen der Nadel die ganze Decke abhebt oder von Radialsprüngen durchsetzt sieht. Auch kann man weiches Paraffin nach dem Durchstecken des Würzelchens leicht um dieses festdrücken und so den Verschluß völlig abdichten. Diese Methode hat auch den weiteren Vorteil, daß ein Bewässern unnötig ist; im dunstgesättigten Raume halten sich solche Kulturen wochenlang und entwickeln sich ganz normal. Zur Erzielung des dunstgesättigten Raumes ist es natürlich am zweckmäßigsten, wenn man die Pflanzen in größeren, warmen, feuchtigkeitsgesättigten Räumen hält, denn unter engen Glocken ist eine Schädigung der Pflanzen durch die sich an-

sammelnde Kohlensäure nicht ausgeschlossen, was man auch daraus ersieht, daß sich Pflanzen unter Glocken, als deren Abschlußflüssigkeit starke Kalilauge gewählt wurde, wenigstens in der ersten Zeit, freudiger entwickeln und größere Längen erreichen als solche unter wasserabgesperrten Gefäßen. Die Kohlensäure wird in Lichtkulturen sicherlich vielfach, sowie sie als Atmungsprodukt die Pflanze verlassen hat, sofort zur Assimilation im Lichte herbeigezogen. Arbeitet man unter Glocken, so ist es notwendig, dieselben mindestens alle 24 Stunden abzuheben, gründlich auszuschwenken und erst dann wieder die Kultur damit zu bedecken; soll keine Abschlußflüssigkeit verwendet, sondern die Glocke mit Vaselin an eine Glasplatte festgedichtet sein, so stellt man ein Gefäß mit Wasser zur Erhaltung des feuchten Raumes mit unter die Glocke und sorgt für einen den Tubus der Glocke verschließenden, doppelt durchbohrten Stöpsel, durch dessen Glasröhren (eine nahe dem Glockenboden, die andere unterhalb des Stöpsels endigend) man Luft durchleitet, eventuell unter Vorlegung entsprechender Absorptionsgefäße, wenn es sich darum handelt, gasförmige Stoffwechselprodukte nicht zu verlieren. Um den Stöpsel luftdicht dem Tubus einzufügen (wenn man nicht Kautschukpfropfen verwendet), kocht man zunächst den Korkstöpsel in Wasser gründlich aus, durchbohrt ihn entsprechend und setzt ihn nach dem Zusammenquetschen in der Korkpresse gutsitzend in den Tubus ein, dann übergießt man ihn langsam mit aufgeschmolzenem Paraffin, welches seine Poren ausfüllt (man paraffiniere den Stöpsel niemals v o r dem Einsetzen in den Tubus). Dasselbe Ziel erreicht man durch Bepinseln mit Kollodiumlösung, am besten aber, indem man den Stöpsel in einer kaltgesättigten Auflösung von Ammoniumbichromat badet, dann einsetzt und mehrere Stunden dem Lichte exponiert, die braunschwarz gewordene Schicht ist dann absolut undurchlässig. Die Glocke mit den Pflanzen stelle man nicht ins direkte Sonnenlicht, sondern blende dieses durch Jalousien ab oder arbeite im diffusen Licht. Will man mit ultraviolettem Lichte arbeiten, so ist darauf zu achten, daß die ultravioletten Strahlen zu 50 % und mehr von gewöhnlichem Glas absorbiert werden und man sich des Quarzglases bedienen muß. Zur Ausschaltung der Wärmewirkung künstlicher Lichtquellen dienen Küvetten, die, mit Wasser gefüllt, zwischen Lichtquelle und Pflanze geschaltet werden, aber allerdings auch die Intensität des Lichtes dämpfen.

Mitunter wird man als Medium, in welchem die Pflanze wurzeln soll, Gelatine verwenden, wie sie in der bakteriologischen Methodik üblich ist: das wird namentlich dann der Fall sein, wenn man Diffusionsgefälle herstellen will, um Chemotropismen zu untersuchen. In den Versuchen von P o r o d k o[1]) wurde als *Diffusionsmedium eine erstarrte $1^1/_8$ prozentige Agarlösung*, als Diffusionsgefäß eine rechtwinkelige Glaswanne benutzt. Die Glaswanne wird mit warmer Agarlösung gefüllt. Nach dem Erstarren des Agars wird ein Teil desselben entfernt, und zwar so, daß nur eine quergespannte Agarlamelle in der Mitte der Wanne übrigbleibt. Die Lamelle stellt eigentlich einen Block, ein rechtwinkliges Prisma vor, dessen Höhe und Breite die der Wanne sind. Der Agarblock teilt somit das Innere der Wanne in zwei nicht kommunizierende Hälften, von denen die eine mit der zu prüfenden Lösung, die andere mit Wasser

[1]) T h. P o r o d k o , Über den Chemotropismus der Wurzel. Ber. d. d. bot. Ges. 28, 50 (1910).

gefüllt wird, so daß ein Diffusionsstrom den Block durchsetzt. Die Pflanzen werden mit ihren Wurzeln nicht tiefer als 1 mm in den Agarblock reihenweise in 2—3 Reihen eingeführt. Diese Methodik ist auch sehr geeignet, die noch strittige Frage der Wurzelausscheidungen zu behandeln, da man den Gallertblock oder die Gallertblöcke mit Indikatoren tränken könnte, welche, wie Phenolphthalein, Neutralrot usw., empfindlicher als der immer dazu verwendete Lackmusfarbstoff, vielleicht in dieser Frage geeigneter sind als Filtrierpapier oder Marmor oder dergleichen. Freilich wäre es hier um so notwendiger, für vollkommenes Sterilbleiben Sorge zu tragen, um so mehr, als wahrscheinlich gerade in der Frage der Wurzelausscheidungen absterbende Wurzelteilchen eine große, noch zu wenig berücksichtigte Rolle spielen. Dieses Sterilhalten kann aber nach den später zu schildernden Erfahrungen der sterilen Methodik bei höheren Pflanzen keine unüberwindliche Schwierigkeit bieten.

Übrigens hat Porodko[1]) gerade zur Untersuchung von Chemotropismus noch eine einfachere Arbeitsweise angegeben. *Das Versuchsgefäß setzt sich aus zwei Teilen zusammen:* einem Glaszylinder und einem Blumentopf. Der erstere ist mit Wasser halb gefüllt und dient dem gut hineingepaßten Blumentopf als Stütze. Diesem wird vorher der Boden abgesägt und über die untere Öffnung eine grobmaschige Gaze gezogen; hierauf wird eine zirka 1 cm hohe Schicht feuchter Sägespäne daraufgelegt, die gequollenen Samen eingepflanzt und wieder mit Sägespänen bedeckt. Die Versuchsgefäße bleiben dann in einem feuchten, dunklen Raume stehen. Nach ein bis zwei Tagen wachsen die Wurzeln in das feuchte Zylinderinnere hinaus. Haben sie eine Länge von zirka 10—15 mm erreicht, werden die Versuchsgefäße auf einen zitterfreien Tisch getragen und dann mit dem chemotropischen Versuch begonnen.

Besser als mit festen oder halbweichen Medien arbeitet man in Nährlösungen, wobei allerdings zweierlei Nachteile zu berücksichtigen sind: Der Versuch kann nur beschränkte Zeit durchgeführt werden, weil die absterbenden Teile der Wurzel zum Nährboden für Bakterien, niedere Algen usw. werden und dadurch auch die oberirdischen Teile mittelbar leiden und ferner fehlt in der Nährlösung die Möglichkeit für die Pflanze, sich festzuklammern, mit der Wurzel festzuankern, und so muß für die sich vergrößernden oberirdischen Teile eine künstliche Stütze geschaffen werden. Verwendet man Glasgefäße, so ist es sowohl bei Sand- als auch bei Wasserkultur ratsam, sie vorher gründlich auszukochen, damit alle Stoffe, welche aus dem Glase an das Nährsubstrat abgegeben werden könnten, vorher eliminiert seien; bei Sandkulturen kann man, um die nötige Durchlüftung zu erreichen, den Boden statt mit Sand zunächst mit gereinigten größeren Kieseln belegen, eventuell diese noch mit einer Schicht Watte bedecken und dann erst Sand auffüllen oder auch enge Glasröhren senkrecht vom Grunde des Gefäßes bis an die Oberfläche, die Kulturerde durchsetzend, ziehen. Bei feinem Sand vermeidet man ein Zusammenbacken, wenn man nicht die bereits eingefüllte Erde begießt, sondern den Sand vor dem Einfüllen so mit der Nährflüssigkeit durchtränkt, daß er kleine zusammenhängende Brocken bildet, die man dann, durch sanften Druck zwischen den Händen zerreibend, einstreut. Wichtig ist auch die Auswahl der gekeimten Samen. Man sieht schon äußerlich an der Färbung des Samens, an der Länge des hervortretenden

[1]) Th. Porodko, Vergleichende Untersuchungen über Tropismen, I. Ber. d. d. bot. Ges. **30**, 16 (1912).

Würzelchens, an der Keimungsenergie überhaupt, welche Samen ungefähr gleichartig sind, und wähle für einen Versuch nur physiologisch äquivalente Exemplare aus, also zunächst solche von gleicher Samengröße, d. h. annähernd gleichen Reservestoffgehaltes, und solche, deren hervorbrechende Teile in gleichen Zeiten die gleiche Länge erreicht haben. Niemals verwende man zum Vergleiche Keimlinge, deren hervorbrechende Teile an verschiedenen Tagen zu gleicher Länge gelangt sind, überhaupt nicht solche, deren Vorkeimung verschieden lange gedauert hatte. Man wird die Erfahrung machen, daß kleinere Samen zunächst niedrigere Pflanzen geben, weil in erster Linie die Reservestoffe zum Aufbau der Pflanze Verwendung finden; wenn sich auch die Größenunterschiede später, im Verlaufe der Assimilationstätigkeit, wieder ausgleichen[1]), kann man doch, wenn man den Versuch früher abbricht, zu Fehlschlüssen gelangen. Überhaupt achte man darauf, daß die Keimlinge, die man miteinander vergleichen will, unter völlig identischen Bedingungen, die Kulturgefäße am besten nebeneinanderstehend, gezogen werden, gleich in bezug auf Substrat, Licht, Temperatur, Feuchtigkeit. Hat man gleichzeitig annähernd gleichgroße Samen verwendet, so kann man nach Wochen der Entwicklung die hervorgewachsenen Pflanzen soldatisch gleich und ebenmäßig sehen. Man täuscht sich aber doch manchesmal in bezug auf die physiologische Äquivalenz der angekeimten Samen. Wenn man also schon vorher zum Ankeimen etwa die doppelte bis dreifache Anzahl von Samen, als man Pflanzen benötigt, auslegen mußte, so muß man auch nach dem Einsetzen noch vergleichend vorgehen. Die angekeimten Samen werden mit dem Würzelchen in die Erde gesteckt und selbst noch mit einer je nach der Samengröße 2—20 mm hohen Erdschicht überdeckt, welche ganz locker sein muß, damit der Keimling die Schicht leicht durchbrechen kann. Nach zwei bis drei Tagen sieht man dann schon, ob einzelne im Wachstum zurückbleiben oder überhaupt schwächlich sind, was ja mit den Einflüssen zusammenhängen kann, die den Samen oder die Pflanze, die ihn hervorgebracht hatte, getroffen hatten, was äußerlich am Samen nicht beobachtet werden muß. Diese zurückgebliebenen Exemplare entfernt man. Bei der Kultur ohne vorgängige besondere Maßregeln der Asepsis kommt es vor, daß sich im Kulturgefäße an einzelnen Samen ein Pilzbelag zeigt. Das mag schon in der Keimschale der Fall gewesen sein und kann verschiedene Ursachen haben, sei es, daß die Samen von vornherein geschwächt und den Angriffen der Pilzkeime gegenüber weniger widerstandsfähig waren, sei es, daß das zum Ankeimen verwendete Filtrierpapier verunreinigt ist (man verwende deshalb auch womöglich zu diesem Zwecke niemals das gewöhnliche graue, sehr verunreinigte Fließpapier) und dem Pilz schon Nährstoffe bietet, sei es, daß durch allzu reichliches Befeuchten des Keimbettes bei gleichzeitiger Warmhaustemperatur das Aufkommen des Pilzes begünstigt wurde, sei es endlich, daß der Keimraum selbst schon infiziert ist. Man wählt naturgemäß für die Kultur nur ganz gesunde, nicht befallene Samen, aber selbst dann kann es zu einer Verpilzung einzelner kommen, die dann schleunigst entfernt werden müssen, sollen die bis dahin gesunden Pflanzen nicht auch in Mitleidenschaft gezogen sein. Da Bakterien und Pilze mit Vorliebe zwischen den fleischigen Teilen des

[1]) A. Burgerstein, Verhandl. d. zool.-bot. Ges. Wien 1912, S. 17.

Samens und der Samenhaut vegetieren, ist es von Vorteil, die Samenhaut sobald als irgend möglich zu entfernen; natürlich dürfen diese abgenommenen Teile nicht am oder im Kulturgefäß belassen werden, weil sie eine ständige Verpilzungsquelle bilden. Hat man die Kulturgefäße mit den Samen unter eine Glocke gebracht, welche nicht mehr vor Beendigung des Versuches geöffnet werden darf, so ist im Falle der Verpilzung eines Samens der Versuch natürlich unbrauchbar, weil ja nicht nur der Pilz selbst durch seine Stoffwechselprozesse das Resultat unsicher macht, sondern auch die Versuchspflanzen in unkontrollierbarer Weise beeinflußt. Es ist ersichtlich, wie notwendig also auf alle Fälle eine von vornherein eingeschlagene aseptische Versuchsmethodik sich empfiehlt. In einzelnen Fällen, wo eine solche Kulturmethode nicht verwendet worden war, habe ich mir in der Weise geholfen, daß durch den Korkstöpsel der Glocke ein dünner Platindraht mit hakenförmig umgebogener Spitze gezogen war, so daß man mit ihm im Notfalle den angegriffenen Samen herausheben und in ein unter der Glocke befindliches Gefäß mit konzentrierter Schwefelsäure stecken konnte, eine Operation, die aber schon durch das notwendige Hin- und Herbiegen des Drahtes sehr mühsam wird. Die Versuchstöpfe sollen möglichst groß sein, damit das Wurzelsystem der Pflanze hinlänglichen Raum zur Ausbreitung finde; die Töpfe, wie sie Sachs verwendet, bestehen aus schwarzbraun gebranntem Ton, der sehr porös und von großer Festigkeit ist; durch die große Porosität wird beim gleichmäßigen Feuchterhalten der Erde einem Versumpfen des Bodens vorgebeugt. Wenn man größere Reihen vergleichender Versuche anstellt, ist besonders im Winter auf die Erhaltung des Bodens große Sorgfalt zu verwenden, damit demselben der gleiche Grad von Frische, Feuchtigkeit und Lockerheit gewahrt bleibe. Diese drei Momente üben den größten Einfluß auf das Eintreten und die Schnelligkeit der Keimung. Die zur Füllung des Topfes bestimmte Erde wurde von Sachs[1]) jedesmal einer besonderen Bearbeitung mit den Händen unterzogen; zwischen den locker übereinander hinlaufenden Handflächen wurde sie in feuchtem Zustande so lange zerrieben, bis die ganze Masse ein sehr lockeres und völlig gleichförmiges Aussehen angenommen hatte. Dieser Bearbeitung wurde die Erde jedesmal von neuem unterworfen, wenn nach Beendigung des Versuches dieselbe zur Keimung neuer Samen dienen sollte. In diesem aufgelockerten Zustande wurde die Erde in die Töpfe eingefüllt und dann stark eingerüttelt, aber niemals festgedrückt. In die Kulturerde werden die größeren Samen immer so gelegt, daß die Keimwurzel senkrecht in den Boden hinabwachsen kann, und die Samen dann, wie erwähnt, mit lockerer Erde bedeckt. Für kleine Samen werden in die frisch eingefüllte feuchte Erde Furchen gezogen und dann die Samen mit einer ganz dünnen Schicht Erde nach dem Hineinlegen bedeckt. Wo es auf Konstanterhaltung der Temperatur ankommt, leistet der von *Sachs konstruierte Apparat* (Fig. 10) gute Dienste: AA ist ein wasserdicht angefertigtes Gefäß von Eisenblech, welches am oberen Rande drei Haken trägt, von denen zwei ($F F_2$) in der Abbildung angegeben sind; diese Haken sind nach oben konkav und dienen dazu, den gläsernen

[1]) J. Sachs, Physiologische Untersuchungen über die Abhängigkeit der Keimung von der Temperatur, Jahrb. f. wiss. Bot. **2** (1860); Physiologische Untersuchungen über die Keimung der Schminkbohne. Sitz.-Ber. d. k. Akademie d. Wiss. Wien **37** (1859).

Helm *H* zu tragen, der etwas größer ist als das Gefäß *A A*; der Helm hält die Luft über der Erde feucht, und indem er die ausstrahlende Wärme zum Teil zurückwirft, erhöht er die Temperatur im Innern des Apparates um mehrere Grade; auf der inneren Seite des Helmes schlägt sich Wasser nieder, welches außerhalb des Apparates abtropft, da der Helm übergreift; zugleich wird die Luft unter dem Helm noch dadurch erwärmt, daß die um *A A* befindliche aufsteigende warme Luft sich unter *H* ansammelt. Ein zweites eisernes Gefäß *C C* von der Gestalt des vorigen, aber kleiner, trägt oben einen ausgebogenen Rand, welcher auf den Rand von *A A* so übergreift, daß *C C* in *A A* hängt; der Boden von *C C* bleibt auf diese Weise etwa einen Zoll über dem Boden von *A A* und ungefähr ebensoviel stehen die Seitenwandungen beider Gefäße ab. Der freie Raum *K* zwischen *A A* und *C C* wird mit Wasser gefüllt, damit die größte Wärme zum oberen Rande des Topfes hingeleitet werde, denn da der untere Teil des Blumentopfes durch Ausstrahlung weniger verliert und dem Luftwechsel weniger ausgesetzt ist, so würde er sich viel stärker erwärmen als der obere Teil; übrigens nimmt die Wärme auch von der Wand des Topfes zum Zentrum ein wenig ab. Auf dem Boden von *C C* ragen Füße aufwärts, auf welche der Blumentopf $E E_1$ gestellt wird, in dem sich die Keimlinge *Kl* entwickeln; dieser läßt zwischen sich und dem Gefäße *C C* einen freien Raum, so daß die Luft um den Topf ungehindert zirkulieren kann. Der ganze Apparat steht auf einem starken, eisernen Dreifuß $G G_1$, unter den ein Mikrobrenner gestellt wird, am besten ist ein gleichmäßig erwärmender Kranzbrenner.

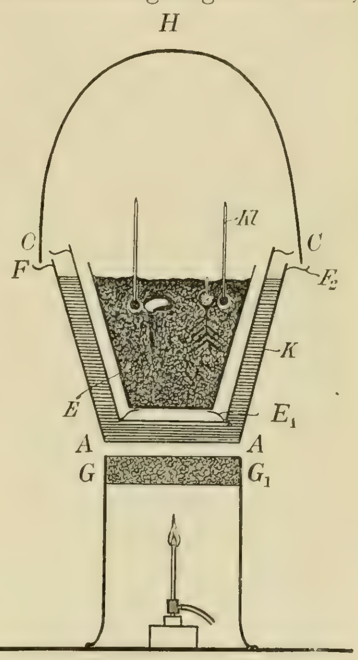


Fig. 10. Keimapparat nach Sachs zur Erhaltung konstanter Temperatur.

Wie wichtig für manche Pflanzen die Erhaltung des feuchten Raumes ist, zeigt Sachs in seinen Untersuchungen über die Keimung der Schminkbohne, indem trockene Luft wohl die Bildung der Blätter nicht hinderte, aber bewirkte, daß die Blätter klein blieben; die trockene und durch Heizung immerfort in Bewegung befindliche Luft eines im Winter geheizten Zimmers genügte, um die Fläche des ersten Blattes auf 2—3 qcm zu reduzieren, während sie bei derselben Temperatur unter einer Glasglocke in feuchter Luft 30—40 qcm Fläche erreichten; die retardierende Wirkung in der Entwicklung der Blattfläche macht sich sogleich nach dem Heraustreten der Keimblätter an die Luft bemerkbar und bei feuchtem, warmem Boden und warmer, aber trockener Luft kann es durch den Mangel an Luftfeuchtigkeit so weit kommen, daß die Primordialblätter völlig vertrocknen.

Die Forderung, daß die Kulturgefäße möglichst groß zu wählen sind, mindestens mit einem bis zwei Litern Fassungsraum für etwa zehn Bohnenpflanzen, gilt in noch höherem Maße für die Wasserkultur als für die Sandkultur. Es wurde vorhin davon gesprochen, daß ein großer Nachteil dieser Kulturmethode darin bestehe, daß die Wurzel im Wasser sich

noch empfindlicher gegen allerhand schädliche Einflüsse verhält, wie Spuren von Schwermetallsalzen und Fäulnisprodukte, um so mehr, als die Durchlüftung hier schwieriger ist; aber dafür kann man in dem durchsichtigen Glase jede Veränderung des Wurzelsystems sehen und überhaupt dessen Entwicklung verfolgen (Fig. 12). Freilich gelingt das auch in der Erdkultur durch den *Sachsschen Keimkasten* (Fig. 11), dessen schiefstehende Wände, an welchen sich das Wurzelsystem ausbreitet, aus Glas sind. Eine Unannehmlichkeit der Wasserkultur ist es ferner, daß sich allerhand niedere Organismen, besonders Algen, leicht darin entwickeln, welchen Übelstand man übrigens dadurch einschränken kann, daß man das Kulturgefäß mit schwarzem Papier umgibt, wodurch man auch für die Entwickelung der Wurzel natürlichere Bedingungen schafft. Wegen der notwendigen größeren Widerstandsfähigkeit ist es zweckmäßig, etwas ältere Entwicklungsstadien für die Wasserkultur zu wählen, als sie für Sandkultur notwendig sind, schon desalb, weil das Würzelchen ins Wasser eintauchen muß, um der Pflanze Wasser zuzuführen. Von den Sägespänen, in denen die Samen angekeimt wurden, bringen dieselben gewöhnlich Spuren von Stoffen in die Wasserkultur mit, wodurch dieselbe verunreinigt wird. Man muß demnach weiche, möglichst harzfreie Sägespäne, am besten Buchenholzspäne, als Keimbett wählen und die angekeimten Samen vor dem Einbringen in die Wasserkultur sorgfältig mit destilliertem Wasser abspritzen. Zur Wasserkultur eignen sich übrigens nicht alle Samen gleichmäßig, vor allem wird man kleine Samen wegen der Unbequemlichkeit der Manipulation ausschließen, aber auch von größeren Samen wird man mit Vorliebe die in Wasserkultur sich gut entwickelnden der Bohne, Lupine, Helianthus, Mais, Buchweizen usw. bevorzugen. Die Befestigung macht, wie erwähnt, ebenfalls Schwierigkeiten, denn niemals darf ein Stengelorgan unters Wasser tauchen, weil dadurch Fäulnisvorgänge bedingt wären. Nun treten aus den Gramineen beispielsweise nach unten nur Wurzelorgane aus, sie können also unmittelbar über der Wasseroberfläche befestigt werden, dagegen entwickelt sich beim Buchweizen, Helianthus, Phaseolus usw. zwischen Kotyledonen und Wurzel das Stengelstück des Hypokotyls, das aus dem Wasser herausragen muß, respektive, da es sich durch längere Zeit streckt, immer wieder herausgezogen werden sollte; das ist aber von vornherein nicht so schwierig, wenn man darauf Bedacht nimmt, daß überhaupt nur die Spitze der Wurzel, nicht aber deren oberste Teile ganz ins Wasser zu tauchen haben. Die Kulturgefäße sollen, wie bereits erwähnt, bei der Wasserkultur sehr geräumig sein. Wortmann[1]) weist darauf hin, daß die Wurzelatmung dann besser vor sich geht und die Kulturflüssigkeit niedrigere und gleichmäßigere Temperatur beibehält. Die Pflanzen gedeihen weit besser als in schmalen Gefäßen und brauchen mehr oder weniger keine weitere Fürsorge, wenn die Kultur einmal eingestellt ist. Wortmann verwendet Glaszylinder, die 26½ l fassen

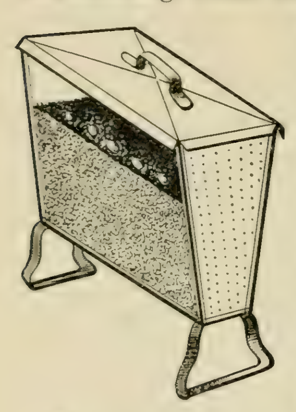


Fig. 11. Keimkasten nach Sachs.

[1]) Wortmann, Bot. Ztg. 1892, p. 643.

(zum Preise von 5 Mark bei Ehrhardt & Metzger, Darmstadt). Nach dem Auskochen des Gefäßes ist es zweckmäßig, dasselbe mit starker Salpetersäure auszuwaschen, die Salpetersäure durch Wasser zu vertreiben, dann mit einer starken Sublimatlösung nachzuspülen und schließlich mit destilliertem, ausgekochtem Wasser solange durchzuwaschen, bis ein Tropfen des Waschwassers mit Silbernitrat keine Fällung mehr gibt. Will man größere Pflanzen ziehen, so empfiehlt es sich, in den breiten Hals des Kulturgefäßes einen Kork mit breiter Bohrung zu setzen, welche zur Aufnahme der Pflanze dient. Der Kork erhält radial von der Bohrung einen Schnitt, welcher einen Sektor des Korkes entfernt, der nachher wieder eingefügt wird; durch diese Öffnung kann der Stengel der Pflanze auch später noch seitlich eingeführt werden. Ein Tränken des Korkes mit Paraffin gewährt guten Schutz vor Schimmelpilzen. Verwendet man gläserne Zylinder als Kulturgefäße, so erhalten diese einen Deckel, der in der Mitte ein größeres Loch zur Aufnahme der Pflanze und seitlich davon ein kleineres Loch zur Befestigung der Holzstütze trägt, an welche die Pflanze nach dem Heranwachsen angebunden wird; besonders notwendig sind solche Stützen natürlich für windende oder schlingende Pflanzen. Pfeffer verwendet als Deckel für das zylindrische Kulturgefäß lackiertes Zinkblech oder Porzellan, in dessen mittlere Durchbohrung die Pflanze mit Hilfe eines halbierten und paraffinierten Korkes angebracht ist; ein radialer Schlitz des Deckels gestattet auch hier das Ein- und Ausschieben des Pflanzenstengels. In der Durchbohrung des Korkes wird der junge Keimling mit Watte so befestigt, daß die Reservestoffbehälter sich oberhalb des Korkes, also außerhalb der Flüssigkeit, befinden, eventuell befestigt man das Hypokotyl mittels der Watte im Stöpsel. Diese Art der Kultur dient, wie gesagt, nur für größere Pflanzen, bei denen man die Entwicklung eines einzelnen Individuums und seiner Teile studieren will; für die gewöhnlichen Laboratoriumsversuche mit kleineren Keimpflanzen ist aber dieses Verfahren schon deshalb höchst unpraktisch, weil man ja viele Vergleichspflanzen, womöglich in einer Kultur, zu Vergleichszwecken



Fig. 12. Wasserkultur von Hartwegla comosa (nach O. Richter.)

zu halten wünscht, wofür bei dem eben geschilderten Verfahren ebensoviele Kulturzylinder nötig wären. In diesem Falle benutzt man zweckmäßig (nach dem Vorschlage von Portheims) mit Gaze überspannte Einsiedegläser, die in verschiedener Größe zu haben sind. Das gründlich gereinigte Glas wird mit mehr oder weniger engmaschigem Organtin überspannt, indem man die feuchte Gaze, welche sich so bequem spannen läßt, mit Zwirn an dem wulstigen Rande des Einsiedeglases festbindet. Da der Organtin reichlich mit Stärke getränkt ist und von der Appretur her gewöhnlich noch Reste von Mineralsalzen, hauptsächlich Kalk, enthält, muß man ihn vor der Verwendung in einprozentiger Salzsäure oder Salpetersäure auskochen (nicht zu lange, weil sonst das Gewebe zerfällt), worauf man ihn nach sehr sorgfältigem Auswaschen mit destilliertem Wasser über das Einsiedeglas spannt. Der Organtin wird so geschnitten, daß er sich nachher gerade bequem binden läßt, und die etwa herabhängenden Zipfel abgeschnitten; niemals lasse man solche Zipfel in eine Flüssigkeit, etwa eines Untersatzes, hineintauchen, weil auf diese Weise infolge der kapillaren Saugung Flüssigkeiten in das überspannende Netz und so in die Kulturlösung hineingelangen könnten. Zwischen die Maschen des Organtins werden dann die Würzelchen der angekeimten Samen mit Beachtung der früher erwähnten Vorsichtsmaßregeln gesteckt, wobei es allerdings bei zu weiten Maschen vorkommen kann, daß Stengelteile in die Flüssigkeit hineinrutschen. Ein weiterer Nachteil der Einsiedegläser ist die schwierige Befestigung von notwendig werdenden Stützen, da diese an der zylindrischen Wand des Einsiedeglases nur schwierig anzubinden sind und auch zwischen die Maschen des Organtins nicht gesteckt werden können. Immerhin ist mit der Organtinmethode die Möglichkeit geboten, zahlreiche Pflanzen, je nach der Größe des Kulturgefäßes, in einem Gefäße unterzubringen. Als Nährlösung eignet sich gewöhnliches Brunnen- oder Leitungswasser (z. B. das Wiener Hochquelleitungswasser ganz ausgezeichnet), aber es sind von verschiedenen Autoren verschiedene Rezepte für Nährlösungen angegeben worden, welche namentlich dort Verwendung finden werden, wo es sich um genaue Kontrolle des der Pflanze zur Verfügung stehenden Salzmaterials handelt. Die gebräuchlichste Nährlösung ist jene von Knop, sie enthält auf einen Liter Wasser:



Fig. 13. Wasserkultur eines Zweiges von Aesculus Hippocastanum (nach O. Richter).

0,25 g $MgSO_4$
1,00 „ $Ca(NO_3)_2$
0,25 „ KH_2PO_4 (Monokaliphosphat)
0,12 g KCl
Spur $FeCl_3$.

Wiesner ersetzt in dieser Nährlösung das KCl durch KNO_3, es ist noch strittig, ob das Cl-Ion für manche Pflanzen schädlich ist, während es nach Nobbe für Buchweizen zur freudigen Entwicklung dieser Pflanze geradezu notwendig erscheint. Birner und Lucenus verwenden:

1000,0 g H_2O	1,0 g KH_2PO_4
0,5 „ $MgSO_4$	1,1 „ $Fe_3(PO_4)_2$.
1,5 „ $Ca(NO_3)_2$	

Sachs setzt seine Nährlösung folgendermaßen zusammen:

1000 g H_2O	0,5 g $MgSO_4$
1,0 „ KNO_3	0,5 „ $Ca_3(PO_4)_2$
0,5 „ NaCl	Spur $FeCl_3$.
0,5 „ $CaSO_4$	

Mit Rücksicht darauf, daß die Nährlösung für höhere Pflanzen schwach sauer sein soll, ist es wichtig, zu wissen, daß KH_2PO_4 sauer, das Dikaliphosphat K_2HPO_4 alkalisch, das tertiäre Kaliphosphat K_3PO_4 schließlich physiologisch neutral ist; man verwendet aus dem angeführten Grunde vornehmlich Monokaliphosphat. Tollens verwendet drei Lösungen, welche den großen Vorteil bieten sollen, die Entwicklung von niederen Algen in der Kulturlösung zu verhindern:

A.	B.	C.
100 g $Ca(NO_3)_2$	25 g KH_2PO_4	50 g $MgSO_4$
25 „ KNO_3	1000 „ H_2O.	1000 „ H_2O.
15 „ NaCl		
1000 „ H_2O.		

Von diesen drei Lösungen gelangen je 100 ccm auf 10 Liter Wasser zur Verwendung. Es ist zweckmäßig, sich bei jeder der genannten Lösungen eine etwa zehnmal so hohe Konzentration in Bereitschaft zu halten und vor der Verwendung entsprechend zu verdünnen. Die größere Konzentration der Vorratslösung verhindert das Aufkommen von Algen darin vor der Verwendung. Schließlich sei die Nährlösung von van der Crone genannt:

1,00 g KNO_3
0,5 „ $CaSO_4$
0,5 „ $MgSO_4$
0,25 „ $Ca_3(PO_4)_2$
0,25 „ $Fe_3(PO_4)_2$.

Eine gute Nährlösung erhält man nach Pfeffer, wenn man

4,0 g $Ca(NO_3)_2$
1,0 „ KNO_3
1,0 „ $MgSO_4 + 7\,H_2O$
1,0 „ KH_2PO_4
0,5 „ KCl

zu 7 Litern (= 0,106 % Salz) oder zu 3 Litern (= 0,25 % Salz) löst und noch 3—6 Tropfen der offizinellen $FeCl_3$-Lösung hinzufügt. Oder aber, wenn man

a) 20,5 g $MgSO_4 + 7\,H_2O$

zu 350 ccm auflöst; ferner

b) 40 g $Ca(NO_3)_2$
10 „ KNO_3
10 „ KH_2PO_4

zu 350 g Wasser auflöst und von Lösung a und b je 100 ccm zu 9,8 Litern Wasser setzt, so daß man eine Lösung mit insgesamt 0,2 % wasserfreier Salze erhält, zu der man nötigenfalls noch etwas KCl fügt. Die

Zusammensetzung der Nährlösung kann also in relativ weiten Grenzen schwanken, die Sulfate und Phosphate sollen aber keinesfalls zu stark überwiegen, auch soll das Magnesiasalz in geringerer Menge geboten werden als Kalk- und Kalisalze; im ganzen sollen etwa 0,1—0,5 % Salze im Liter enthalten sein; die Azidität muß immer gewahrt bleiben, so daß man den zwar an sich schon sauer reagierenden Nährlösungen noch etwas Phosphorsäure oder Spuren verdünnter Salpetersäure zusetzen kann. Wir glauben heute annehmen zu dürfen, daß die Salze der Nährlösung nicht als Moleküle, sondern in Form ihrer Ionen aufgenommen werden: daher kommt es auch, daß die Nährlösung mit der Zeit alkalisch reagiert und durch Zufügung von Säure wieder zur sauer reagierenden umgewandelt werden muß. Besonders bei der Assimilation gewinnt die anfangs sauere Nährlösung, wie Molisch gezeigt hat, die Eigenschaft, Phenolphthalein zu röten, also alkalisch zu reagieren[1]), was entweder darauf zurückgeführt werden kann, daß von der Pflanze Kationen in die Nährlösung ausgeschieden werden, was durchaus möglich ist, nachdem wir heute schon durch zahlreiche Untersuchungen über die Rückwanderung der Salze aus dem Pflanzenkörper in das Substrat orientiert sind, oder auf die schnellere Aufnahme der Anionen während der Assimilationstätigkeit, vielleicht weil diese zur Formierung von Kohlehydrat- und Eiweißkomplexen Verwendung finden, während die Kationen in der Nährlösung sich anhäufen und das Ionengleichgewicht erst bei Nacht durch Nachziehen der Kationen — die Nährlösung verliert bei Nacht das Vermögen, Phenolphthalein zu röten — wiederhergestellt wird. Im Einklange damit steht der Befund, daß der Aschengehalt der Blätter bei Nacht größer ist als bei Tage. Immerhin ist die Pflanze in der Lage, die Mineralstoffe auch aus weniger ionisierten Verbindungen zu resorbieren, es ist z. B. möglich, sie durch Darbietung von Isäthionsäure oder Taurin mit Schwefel zu versorgen. Versuche, der Pflanze die notwendigen Aschenelemente durchaus in organischer Bindung zu bieten, sind bisher wegen der leichten Verpilzung solcher „Nährlösungen" noch nicht mit Erfolg durchgeführt worden, obwohl es hinlänglich organische Verbindungen gäbe, welche nicht als Gifte wirken, z. B. Äthylnitrat, Phosphorsäureester der Alkoholradikale, Taurin usw. für die Anionen, die Metallsalze schwach dissoziierter organischer Säuren für die Kationen. Freilich wirkt doch jede von diesen Substanzen mehr oder weniger spezifisch, es sind aber doch bestimmte allgemeine Erscheinungen, welche sich bei Verwendung solcher wenig oder nicht dissoziierter Nährsubstrate abstrahieren ließen. Von wesentlicher Bedeutung ist auch die Konzentration der Nährlösung, denn auch ohne Giftwirkung macht eine Steigerung des osmotischen Wertes ein Gedeihen unmöglich, bei einer Steigerung des optimalen Salzgehaltes von 0,2—0,5 % auf 2,5—3 % wird den meisten Pflanzen das Wachsen unmöglich gemacht. Dasselbe gilt natürlich, wenn die normale Nährlösung in ihrem osmotischen Druck durch Zusatz eines einzelnen Salzes entsprechend gesteigert worden ist. Man darf also, ohne die Pflanzen zu schädigen, die Konzentration der beschriebenen Nährlösungen nicht auf das Doppelte erhöhen, wohl aber darf man sie auf das Doppelte verdünnen, ohne eine Beeinträchtigung der normalen Entwicklung ein-

[1]) Auch Hassack und später O. Loew [Ber. d. d. chem. Ges. **22**, 482 (1889)] haben diese von Molisch [Sitz. Ber. d. k. Akad. Wien **18** (1909), **19** (1910)] studierte Erscheinung beobachtet.

treten zu sehen. Bei weiterer Verdünnung sieht man zunächst eine Überverlängerung der Wurzel und auch der oberirdischen Teile eintreten, ganz ähnlich, wie es sich bei Aufzucht der Pflanze bei Lichtmangel zeigt. Dieses „Nährstoffetiolement" beruht darauf, daß der in geringster Menge vorhandene Nährstoff und die ihm entsprechenden Anteile der übrigen im normalen Verhältnis vorhandenen Nährstoffe viel rascher resorbiert werden als dies unter gewöhnlichen Verhältnissen der Fall wäre. Später bleibt dann eine solche Pflanze natürlich gegen die normalen Kontrollexemplare zurück. Ist nur einer von den Konstituenten einer normalen Nährlösung in zu geringer Quantität vorhanden, so wirkt dies so, als ob alle Bestandteile der Nährlösung in abnormal geringen Mengen vorhanden wären, denn nach dem sogenannten Gesetze des Minimums können die Nährstoffe nur in proportionalem Verhältnisse zu dem in geringster Menge vorhandenen Nährstoff resorbiert werden[1]. Das Gesetz des Minimums ist übrigens nicht auf die Mineralstoffe allein beschränkt, sondern gilt für alle Nährstoffe, wie Kohlensäure, Stickstoffverbindungen, Wasser; aber noch mehr, es erstreckt sich überhaupt auf alle Verhältnisse, welche beim Gedeihen der Pflanze zusammenwirken, so daß bei einem Mangel an Licht ein Überschuß von Kohlensäure ungenutzt bleibt, und vice versa, daß infolgedessen auch die Mineralstoffe nicht entsprechend ausgenutzt werden, daß ein Mangel an Wärme auch wieder seinerseits die Verwertung der übrigen Vegetationsfaktoren beeinflußt, kurz, das für die Mineralstoffaufnahme gefundene Gesetz des Minimums ist nur ein Spezialfall der das Pflanzengedeihen bestimmenden Korrelation der Verhältnisse.

Aus den angeführten Gründen ist es zum bloßen Erziehen der Pflanze ganz unnötig, die Salze der Nährlösung etwa auf einer feinen analytischen Wage abzuwägen, sondern es genügt dazu vollauf die gewöhnliche Handwage. Aus den Nährlösungen, welche Eisenphosphat enthalten, setzt sich dieses schwer lösliche Salz gewöhnlich als Niederschlag zu Boden, aber abgesehen davon, daß kein Mineralsalz praktisch vollkommen unlöslich ist und für die Pflanzenwurzel Spuren genügen, welche durch Wurzelausscheidungen sukzessive herausgelöst werden, reicht ein zuzeiten erfolgendes Aufwirbeln der Nährlösung, etwa bei der Durchlüftung, aus, um schwerlösliche Salze auch den kleinsten Pflanzenwurzeln zugänglich zu machen. Wenn auch die Pflanzenzellen die Fähigkeit der Speicherung von in Spuren vorhandenen Mineralsalzen besitzen, kommt es doch schließlich bei weitgehender Verdünnung zu einem Konzentrationsminimum, welches für ein dauerndes Gedeihen der Pflanze nicht ausreicht. Das Eisen, wiewohl ein für die Ausbildung des Chlorophyllfarbstoffes höchst wichtiges Element, darf doch nur in Spuren vorhanden sein (gleichgültig welcher Oxydationsstufe das verwendete Salz entstammt) und Spuren genügen auch der Pflanze vollauf, ja es ist sogar schwer, eisenfreie Lösungen zu erhalten, denn die gewöhnlichen Handelspräparate der für die Nährlösung dienenden anderen Salze enthalten genügend Eisen, um das Gedeihen der Pflanze zu ermöglichen, welche in den Samenkotyledonen einen genügenden Vorrat an Eisenverbindungen besitzt, um wenigstens die ersten Triebe

[1]) Bezüglich der mathematischen Formulierung dieses Gesetzes sei auf dei interessanten Abhandlungen von A. Mayer, Landw. Vers. stat. 78, 115 (1912), R. Rodewald, ebendas. Seite 247, 389, E. A. Mitscherlich, 75, 23 (1911), M. Th. Pfeiffer, E. Blanck, M. Flügel, 76, 169 (1912) verwiesen.

ganz ohne von außen gebotenes Eisen zu erzwingen. Durch eine merkwürdige Erscheinung gelangte van der Crone zur Aufstellung seiner Nährlösung. Knop hatte gefunden, daß Wurzeln in einer zirka 0,0125 prozentigen Phosphorsäurelösung absterben, in neutralen oder schwach alkalischen Lösungen aber gut gedeihen; da nun die Verwendung des primären Kaliphosphates eine mehr oder minder starke Abweichung von der neutralen Reaktion bedingt, verwendete van der Crone statt dieses eine Mischung des primären und sekundären Kaliphosphates. Enthielten nun seine Nährlösungen außer 0,05 % dieser Mischung und den anderen üblichen Nährsalzen noch 0,0005 % $FeSO_4$ als Eisenquelle, so wurden die Pflanzen chlorotisch, sie blieben aber grün, wenn die Phosphatzufuhr unterblieb (natürlich blieben sie dann infolge Phosphormangels klein). Auch andere und schon sehr geringe Mengen von Phosphorsalzen und auch Eisenphosphat als Eisenquelle bewirkten diese Erkrankung, während alleinige Darreichung von Ferrophosphat als Eisenquelle keine Chlorose hervorrief. van der Crone bezog diese Wirkung auf die löslichen Phosphate und ermittelte, daß eine Mischung des schwerlöslichen Ferrophosphates und tertiären Kalziumphosphates besonders günstig sei. Die Nährlösung soll deshalb so günstig wirken, weil 1. das Phosphat, 2. das Eisen sich in ungelöstem Zustand finden, 3. beide, obwohl ungelöst, sich in gut resorbierbarem Zustande befinden, 4. die angewandte Eisenverbindung, obwohl ungelöst, große Aktivität besitzt, 5. den Wurzeln infolge des Vorhandenseins ungelöster Stoffe Gelegenheit gegeben ist, ihre naturgemäße Funktion möglichst vollkommen zu vollziehen, 6. weil die Reaktion neutral ist und bleibt. Diese Nährlösung erfuhr günstige und auch abfällige Beurteilung; während Noll in dieser Lösung ein ungleich besseres Wachstum der Pflanzen eintreten sah als in der Knopschen und Sachsschen und auch angibt, daß darin die Entwicklung kleiner Algen sehr beschränkt ist, sieht Takeuchi in der Verwendung der van der Croneschen Lösung keinen besonderen Vorteil, sondern erklärt, daß gesunde Pflanzen auch in Nährlösungen gedeihen, die gelöste Phosphate enthalten. Eine sehr wertvolle vergleichende Studie verdanken wir Benecke[1]); dieser Forscher führte den Nachweis, daß in allen Nährlösungen, in denen die Versuchsobjekte van der Crones zur Chlorose neigten, eine verminderte Löslichkeit des Eisens besteht, im Vergleich zu solchen Lösungen, in welchen van der Crone gesunde Pflanzen erzielen konnte. Besonders bedinge Zufuhr löslicher Phosphate, auch des saueren Kaliphosphates zu Nährlösungen, welche Eisenphosphat als Eisensalz führen, eine verminderte Löslichkeit des Eisens, dagegen bedingen die löslichen Phosphate keine von der Eisenzufuhr unabhängige Chlorose. Ebenso wie Phosphate in der Nährlösung die Aufnahme des Eisens verhindern oder erschweren, könne auch reicher Phosphorgehalt der Pflanzenzellen, besonders im Einvernehmen mit anderen die Löslichkeit des Eisens herabsetzenden Momenten die Weiterleitung und Verarbeitung des Eisens in der Pflanze erschweren und unmöglich machen und so Chlorose hervorrufen. — Benecke[1]) verwendete zur vergleichenden Kultur die kleinkörnige Sorte von Zea Mays (Zea praecox) und folgende Lösungen:

[1]) W. Benecke, Die van der Cronesche Nährsalzlösung. Zeitschr. f. Bot. 1, 235 (1909).

nach van der Crone			nach Pfeffer		
1000	g	H_2O	1000	g	H_2O
1,00	„	KNO_3	1,3	„	$Ca(NO_3)_2 + aq$
0,5	„	$CaSO_4 + aq$	0,33	„	KNO_3
0,5	„	$MgSO_4 + aq$	0,33	„	KH_2PO_4
0,25	„	$Ca_3(PO_4)_2$	0,33	„	$MgSO_4 + aq$
0,25	„	$Fe_3(PO_4)_2$,	0,16	„	KCl.

Dazu Eisen: auf 7 Liter oder auf 3 Liter 3—6 Tropfen der offizinellen $FeCl_3$-Lösung. Benecke gab auf 1½ Liter 2—3 Tropfen;

nach Sachs			nach Mayer		
1000	g	H_2O	1000	g	H_2O
1,0	„	KNO_3	1,0	„	$Ca(NO_3)_2 + aq$
0,5	„	$CaSO_4 + aq$	0,25	„	KNO_3
0,5	„	$MgSO_4 + aq$	0,25	„	KH_2PO_4
0,5	„	$Ca_3(PO_4)_2$,	0,25	„	$MgSO_4 + aq$
			0,2	„	$Fe_3(PO_4)_2 + aq$.

Als „Spuren" Eisen wurde in der Lösung nach Sachs die von Pfeffer vorgeschriebene Menge $FeCl_3$ verwendet, während van der Crone in seinen Vergleichsbestimmungen 0,005 g $FeSO_4 + aq$ im Liter benutzte.

Die Lösung nach Kreusler:

1000	g	H_2O
0,23	„	$MgSO_4$
0,1	„	$Fe_3(PO_4)_2$ (in der Lösung selbst gefällt)
0,9	„	$Ca(NO_3)_2$
0,24	„	KNO_3
0,1	„	NaCl
0,24	„	KH_2PO_4

wurde nicht in den Bereich der Untersuchung gezogen.

Jede von den Versuchspflanzen wuchs in 1½ Litern Nährlösung. Der erste Versuch begann Ende März im geheizten Zimmer, Anfang April gelangten die Pflanzen in das Gewächshaus. Gegen Ende April waren die Pflanzen in der Pfefferschen Nährlösung weitaus am besten entwickelt, die beiden anderen wohl auch nicht schlecht, aber zur Chlorose neigend; gegen Mitte Mai wurde dieser Zustand so bedenklich, daß durch Zusatz von 6 Tropfen Salpetersäure auf 1500 ccm Abhilfe geschaffen werden mußte: daraufhin erholten sich die Pflanzen, blieben aber kleiner als die in Pfefferscher Lösung wachsenden. Ende Juni wurde der Versuch, nachdem die Pflanzen bis zur Blüte gelangt waren, abgebrochen; das Frischgewicht betrug bei Pfeffer 55 g, bei Sachs 37 g, bei van der Crone 35 g, die Höhe in Pfeffers Lösung 70 cm, in den beiden anderen 40 cm. Pfeffers Nährlösung erwies sich für Mais stets den beiden anderen überlegen. Besonders auffallend wurden die Unterschiede im Warmhaus bei höherer Temperatur, während im Kalthaus die Unterschiede etwas ausgeglichen wurden. Säuerte man dagegen die van der Cronesche Lösung zu geeigneter Zeit an, so ergab sie schöne Pflanzen, erwies sich also die Kombination $Fe_3(PO_4)_2$ als Eisen- und Phosphorquelle vorzüglich geeignet. Die Überlegenheit der Pfefferschen Nährlösung beruht also darauf, daß sie infolge ihres Gehaltes an Ferrichlorid und Monokaliphosphat sauer reagiert. Dagegen ist das Wurzelsystem in der Sachsschen und van der Crone-

schen Nährlösung besser entwickelt als in der Pfefferschen, da, wie schon Knop gefunden hatte, ein neutraler oder auch schwach alkalischer Nährboden für die Wurzeln besser dienlich ist als ein saurer. Man wird aber doch immer schwach sauere Lösungen verwenden müssen, da sonst die Löslichkeit des Eisens so stark herabgesetzt wird, daß der Sproß zurückbleibt. Benecke empfiehlt daher, die Objekte zunächst zur Heranziehung eines kräftigen Wurzelsystems in neutraler Lösung zu halten und diese erst dann schwach anzusäuern. Da der Gehalt an $Ca_3(PO_4)_2$ ferner den Gehalt der Lösung an Eisen, wie Benecke gefunden hat, stark herabsetzt, wäre es zweckmäßig, durch Weglassen des Kalkphosphates die van der Cronesche Lösung auch für solche Pflanzen geeignet zu machen, die sonst in ihr chlorotisch werden. Für Hafer wurden dieselben Erfahrungen gemacht wie mit Mais. Aus der Diskrepanz der von verschiedenen Forschern für verschiedene Nährlösungen gefundenen Erfahrungen geht hervor, daß neben der Zusammensetzung der Nährlösung vor allem die Art der darin gezüchteten Pflanzen und ferner auch die begleitenden Nebenumstände in Betracht kommen, so daß es sicherlich nicht eine einzige, sondern recht viele vollkommen entsprechende Nährlösungen gibt, wie es überhaupt unmöglich sein dürfte, ein Universalrezept der Nährlösung für höhere Pflanzen aufzustellen. Voraussetzung für die günstige Wirkung der van der Croneschen Nährlösung ist, daß dem Sproß genügend Eisen zugeführt wird. Diese Voraussetzung ist nach Benecke durch die Lösung nach van der Crone gut erfüllt bei zahlreichen Pflanzen, nach Benecke jedenfalls bei Hafer, dagegen nicht bei bestimmten Maissorten, welche in dieser Nährlösung ohne genügendes Ansäuern chlorotisch werden. Günstig erscheint für viele Pflanzen die Weglassung des $Ca_3(PO_4)_2$ aus der van der Croneschen Lösung, weil dieses die Löslichkeit des $Fe_3(PO_4)_2$ herabsetzt. Nach Beneckes Versuchen erscheint die Pfeffersche Nährlösung im allgemeinen den anderen überlegen zu sein, aber es muß große Sorgfalt darauf verwendet werden, sie nicht durch vorschriftsmäßig großen Zusatz von $FeCl_3$ zu stark anzusäuern. Auch der Chlorose erregende Einfluß löslicher Phosphate ist von van der Crone sehr überschätzt und dadurch hervorgerufen worden, daß statt des günstig wirkenden, die Lösung ansäuernden KH_2PO_4 eine Mischung des primären und sekundären verwendet wurde, welche die Lösung neutral oder schwach alkalisch machen. In diesen Versuchen zeigte sich auch deutlich der ungünstige Einfluß zu kleiner Kulturgefäße, welche bei einem Fassungsraum von 250 ccm mit vier Pflanzen beschickt waren; dieser ungünstige Einfluß machte sich geltend, obwohl dadurch die Ansammlung von CO_2 im Wasser begünstigt und daher eine stärkere Auflösung des Ferrophosphates herbeigeführt worden war.

Was die Entbehrlichkeit oder Unentbehrlichkeit der Mineralstoffe[1]) für höhere Pflanzen anlangt, so kann man eigentlich auch hier keine allgemeinen Regeln aufstellen. Wenn auch Kalk, Kali, Magnesia, Eisen, Schwefel, Stickstoff, Phosphor für alle Pflanzen schlechterdings unentbehrlich sind, so gibt es doch Pflanzen, für die Silizium, Mangan,

[1]) L. v. Portheim und M. Samec, Orientierende Untersuchungen über die Atmung gesunder und infolge von Kalkmangel erkrankter Keimlinge von Phaseolus vulgaris. Wiesner-Festschr. 1908 p. 113.

Chlor einen für die normale Weiterentwicklung notwendigen Bestandteil ihrer Nährsubstrate darstellen; ja für die daran angepaßten Pflanzen bedeuten selbst Zink und Aluminium notwendige Nährstoffe. Es kommt also auch hier auf die Individualität an. Für die Anstellung von Wasserkulturversuchen ist es unbequem, daß das Wasser aus der Nährlösung relativ rasch verdunstet und (wenn nicht unter einer Glocke gehalten) das Kulturgefäß stets nachgefüllt werden muß. Gicklhorn vermeidet diesen Übelstand in der Weise, daß er die *geschnittene Leinwand, welche statt Organtins zur Bedeckung des Einsiedeglases* verwendet wird, in geschmolzenes Paraffin eintaucht, die Leinwand nach dem Erstarren des Paraffins uhrglasförmig einwölbt und nun mit der Nadel in dieselbe Löcher sticht, durch welche die Würzelchen der Pflanze gesteckt werden. Die Leinwand kann an den Rändern des Einsiedeglases entweder mit Bindfaden festgebunden oder, da sie starr ist, mit Vaseline auf dieselben aufgelegt und aufgedichtet werden. Der Wasserdampf aus der Lösung kondensiert sich dann an dem Paraffin und das Wasser tropft fortdauernd zurück. Übrigens ist es nicht zweckmäßig, die Pflanzen allzulange in derselben Nährlösung zu belassen. Verwendet man breithalsige Zylinder und befestigt darin nur eine einzelne Pflanze mittels Korkes, so ist es zweckmäßiger, frisch geglühten Asbest statt Watte zu verwenden, keinesfalls darf aber Watte oder Asbest bis zum unteren Rande des Stöpsels reichen und muß überhaupt völlig trocken gehalten werden, denn ein solches Feuchtwerden, welches die Grundlage von Pilzinfektion ist, bewirkte in 30 von 56 Fällen das Zugrundegehen der Keimpflanzen infolge Pilzinvasion. Selbstredend muß aus demselben Grund auf völlige Unversehrtheit der Pflanzen vor und während der Befestigung hingewirkt werden. Will man die Pflanze in ein anderes Kulturgefäß übertragen, ist es aus demselben Grunde vorzuziehen, nicht die Pflanze allein, sondern mitsamt dem Kork zu übertragen; aber ist aus irgendeinem Grunde der Asbest um die Befestigungsstelle feucht geworden, ist es besser, einen frischen Kork zu nehmen und die Pflanze frisch zu befestigen. Am Ende jeder Versuchswoche sollen die Pflanzen in Kulturgefäße übertragen werden, die lediglich destilliertes Wasser enthalten, und darin drei bis vier Tage belassen, worauf man sie neuerdings in Gefäße übertragen kann, in die man inzwischen frische Nährlösung hineingetan hat. Für ernährungsphysiologische Versuche ist es natürlich um so besser, je länger die Kultur fortgesetzt werden kann, immerhin ist eine dreiwochige Behandlung der Pflanzen für die meisten Fragen ausreichend. Die genannte Auswechslung läßt sich natürlich auch bei Kulturen durchführen, wo die Pflanzen in organtin- oder leinwandüberspannten Einsiedegläsern gezogen werden; zweckmäßig ist es dann, die Befestigung des Organtins so vorzunehmen, daß er statt mit Bindfaden mit S-förmig gebogenen Nickeldrahtstiften über dem Substrat auf den Schalen ausgespannt wird. Dadurch wird auch das lästige kapillare Überfließen der Nährlösung vollkommen vermieden und der Organtin kann besser gespannt werden. Stellt man Versuche an, um die Erkrankungserscheinungen bei Fehlen eines oder des anderen mineralischen Nährstoffes zu studieren, so empfiehlt es sich nicht, wie das bei den meisten einschlägigen Versuchen gemacht wurde, das betreffende Salz, z. B. Kalksalz, bei kalkfreien Lösungen einfach wegzulassen, weil dadurch die Verhältnisse des osmotischen Druckes in der Nährlösung geändert werden und kein reines Ergebnis

des Mangels an dem betreffenden Salz gewonnen werden kann; ja mehr als das, nach neueren Untersuchungen wissen wir, daß die Pflanze ein gewisses osmotisches Gleichgewicht mit der Nährlösung dadurch herzustellen strebt, daß sie im Notfalle Ionen in die Lösung zurückschickt, so daß also auch aus diesem Grunde eine Verarmung des Pflanzenkörpers einträte. Es wird sich in solchen Fällen empfehlen, den Betrag der übrigen Salze der Nährlösung, aber natürlich aller im gleichen Verhältnis, so zu erhöhen, daß die Änderung in den osmotischen Verhältnissen, welche sich durch Weglassung irgendeines Nährlösungsfaktors ergibt, ausgeglichen wird. Für Wasserkultur eignen sich die kräftigen Keimlinge irgendwelcher gewöhnlicher Laboratoriumspflanzen. Neben Phaseolus vulg. und multiflorus haben sich besonders von weniger verwendeten Pflanzen Epilobium hirsutum und Cheiranthus cheiri als günstig erwiesen. Zu Versuchen, die nicht viel Zeit beanspruchen sollen, kann man auch Zweige verwenden, die mit dem abgeschnittenen Ende in die Lösung tauchen (Siehe Fig. 13 auf S. 56.). Triebe von Alisma plantago und Scrophularia aquatica sind für diese Zwecke brauchbar, und wenn man holzige Stengel haben will, eignen sich besonders gut Zweige von Acer pseudoplatanus oder Tilia europaea.

Von den Mineralsalzen ist die Notwendigkeit des Kalkes am frühesten erkannt und am genauesten studiert, wobei auch die Notwendigkeit eines bestimmten Verhältnisses zwischen Kalk und Magnesia, des sogenannten Kalkfaktors erkannt wurde, welcher je nach der Pflanzenart ein verschiedener ist. Nach O. Loew ist das optimale Verhältnis CaO : MgO = 1 : 1 für Reis und junge Triticumpflanzen; Gerste entwickelt sich am besten, wenn doppelt soviel Kalk geboten wird als Magnesia, für Buchweizen ist das optimale Verhältnis $\frac{CaO}{MgO} = \frac{1}{3}$, ebenso für Allium, für Kohl $\frac{2}{1}$, für Hafer $\frac{1}{1}$. Die Krankheitserscheinungen, die bei Phaseolus vulgaris durch Kalkmangel hervorgerufen werden (Fig. 14), hat von Portheim[1]) genau studiert, dessen Beschreibung hier wiedergegeben sei: Die Krankheit beginnt bei den Keimlingen von Phaseolus vulgaris am Hypokotyl (bei Ph. multiflorus am Epikotyl) mit dem Austreten eines Tropfens unterhalb oder an der Krümmung, und zwar auf der Innenseite derselben; manchmal kann man mehrere Tropfen bemerken. Daß in einzelnen Fällen keine Tropfen zu bemerken sind, liegt an dem schnellen Verdunsten der Flüssigkeit. Die Wurzeln hatten sich schon früher gebräunt, an manchen Stellen wurden die Epidermis und ein bis zwei darunterliegende Zellreihen sowie einige Wurzelhaare von der Bräunung ergriffen, während an anderen Stellen die Epidermiszellen kollabierten; später werden immer mehr und mehr Zellen gebräunt; die Gefäßpartien färben sich intensiv braun und die Interzellularen füllen sich mit einem Inhalte von gleicher Farbe. In manchen Fällen erscheint allerdings zur Zeit des Tropfenaustrittes und weitgehender Erkrankung des Hypokotyls die Bräunung der Wurzeln noch nicht so weit fortgeschritten. An den Stellen, wo der Tropfen austritt, gleichen die Zellen ganz denen einer gesunden Pflanze, nur sehen wir gegen die

[1]) L. v. Portheim, Über die Notwendigkeit des Kalkes für Keimlinge, insbesondere bei höheren Temperaturen, Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien **110** (1901). Hier auch ausführliche Literaturangaben.

Krümmung hin eine Bräunung der Gefäßmembranen, einzelner Zellen und Interzellularen im Pericykel. Im zweiten Stadium der Erkrankung wird das Hypokotyl an der Stelle, wo der Tropfen zum Vorschein gekommen war, glasig, doch bräunt sich diese Stelle schnell, so daß mitunter diese Erscheinung nicht mehr wahrzunehmen ist. Manchmal ist das Hypokotyl an dieser Stelle seinem ganzen Umfange nach glasig und braun, mitunter ist die Bräunung auf der Innenseite ausgebreiteter als an der Außenseite. Ein anderes Mal wieder bemerkt man auf der Innenseite einen kleinen, fast schwarzen Fleck und Einschrumpfung des Hypokotyls an dieser Stelle. Im Innern der Pflanze sieht man die Gerbstoffschläuche, die Gefäße und die sie umgebenden Partien erkrankt. Die Zellen des Perycikels mit Ausnahme derer, die an das Kambium grenzen, sind mit braunem Inhalte erfüllt und wimmeln von Bakterien; die Intercellularen dehnen sich so aus, daß einige der Zellen wie isoliert erscheinen; der sie umgebende Raum ist verfärbt und von Bakterien erfüllt. Die Bräunung des Hypokotyls schreitet gegen die Krümmung zu fort, ein Einfallen oder Vertrocknen ist aber noch nicht zu beobachten. Die Gerbstoffschläuche färben sich immer dunkler, und die sie begrenzenden Zellen werden auseinandergetrieben. Die Epidermiszellen an der erkrankten Stelle sind gestreckter als die der gesunden Pflanze und haben ein glasiges Aussehen. Die Gewebepartien der Wurzel sind intensiv gebräunt, dagegen Primordialblätter und Epikotyl, bis auf dessen gelblich gefärbten Gefäße, gesund. An der Stelle, wo die Erkrankung zuerst aufgetreten ist, findet nun eine Einschnürung statt, die ganz kurz oder auch länger sein kann; die eingeschnürte Partie ist dunkelbraun und matt, sie hat das glasige Aussehen verloren und läßt sich nur schwer mit dem Messer schneiden, da das Gewebe hier ganz locker geworden ist. Die Epidermiszellen der angrenzenden Teile nehmen ganz eigentümliche Formen an, sind aufgedunsen, viel größer als bei den gesunden gleichaltrigen Bohnen, und jede Zelle dringt in ihre Nachbarzelle durch einen schnabelförmigen Fortsatz vor. Gleichzeitig mit dem Vorrücken der Bräunung gegen die Kotyledonen zu



Fig. 14. Normale und kalkfrei gezogene Wasserkultur von Phaseolus vulg. nach O. Richter.

geht die Tinktion des Hypokotyls in der Richtung der Wurzel vor sich, bis diese erreicht ist. Die meisten Zellen enthalten sehr viele Bakterien. Wurzeln, die sich an der Ansatzstelle von Hauptwurzel und Hypokotyl am untersten Teile desselben entwickelt haben, bleiben kurz und bräunen sich alsbald. Die Pflanze klappt nun an der eingeschnürten Stelle zusammen, und diese Partie vertrocknet. Querschnitte zeigen uns hier eine zusammenhanglose, körnige, graue Masse, in der sich ein gelblicher Streifen befindet, der die Gerbstoffschläuche mit rotbraunem Inhalt und die Gefäße, die einzigen noch erhaltenen Elemente, enthält. An Stellen, die von der Einschnürung etwas entfernter sind, bemerkt man, daß die Epidermis und die äußersten Zellreihen abgestorben sind und eine undurchsichtige Masse bilden; die anderen Zellen des Pericykels sind zerknittert, zum Teil braun gefärbt oder gestreckt. Das Stranggewebe ist vollständig gebräunt, die inneren Markzellen zerfallen in dunkelbraune Körnchen und Klümpchen, die Gefäße der Vegetationsspitze und der neuen kleinen Blättchen, die sich trotz der Erkrankung entwickeln, zeigen auch schon braune Färbung, die Primordialblätter sind an den Spitzen geschwärzt. Das hypokotyle Glied wird schließlich auch oberhalb der Einschnürung von der Krankheit ergriffen und hat nur an der Ansatzstelle des Epikotyls noch nicht die tiefbraune Färbung angenommen. Das Epikotyl und die schlaff gewordenen Primordialblätter sind dunkelgelb, die Gefäße derselben und der Blattstiel dunkelbraun. Das Faulen des Hypokotyls breitet sich gegen Wurzel und Kotyledonen immer weiter aus, die Pflanze kann sich nicht mehr aufrecht erhalten und fällt zusammen. Die Blätter werden dunkelgelb und glasig, die Gefäße sind dunkelbraun. Schließlich beginnen auch die Blätter und die Endknospe zu faulen, die Wurzeln stellen nach ganz kurzer Zeit ihr Wachstum ein, und es entwickeln sich nur kleine oder ganz rudimentäre Seitenwurzeln, die Wurzelspitze geht zugrunde und ist von einer weißlichen Wolke, den Resten der Wurzelhaube, umgeben. Die Erkrankung durch Kalkmangel macht sich also durch Bräunung und Wachstumseinstellung der Wurzeln, braune Färbung der Gefäße und durch den Tropfenaustritt am hypokotylen Gliede bemerkbar; die anderen pathogenen Erscheinungen sind sekundärer Natur. Durch erhöhte Temperatur wird die Erkrankung befördert. Ähnliche Krankheitserscheinungen ergaben sich auch an den zahlreichen anderen untersuchten Pflanzenarten; durch Bestreichen der eben erkrankten Pflanzen mit geeigneten Kalksalzlösungen zeigte sich ein Zurückgehen der Krankheitssymptome, die beste Wirkung auf die Wurzelentwicklung übte Bestreichen mit zehnprozentiger Kalknitratlösung oberhalb der erkrankten Stelle. Das Bestreichen mit Kalklösung bewirkt, daß sich die Pflanzen bis zum vollständigen Verbrauch der Reservestoffe erhalten. Die Erkrankung der in kalkfreien Nährlösungen am Lichte kultivierten Keimlinge erfolgt um so schneller, je günstiger die sonstigen Wachstumsbedingungen sind. Der Kalkentzug hat eine bedeutende Veränderung in der Aschenzusammensetzung der Pflanzen zur Folge und äußert sich überhaupt durch einen Komplex von Erscheinungen. Von physiologischen Erscheinungen ist die bei Kalkmangel herabgesetzte Atmungsintensität am bemerkenswertesten.

Was die übrigen absolut oder relativ notwendigen[1])

[1]) Höchst interessante, im Laboratorium A. v. Liebenberg's ausgeführte Versuche verdanken wir K. Faack (Untersuchungen über die Rolle einzelner Nährstoffe im Haushalte höherer Pflanzen, Mitt. d. landw. Lehrk. d. k. k.

Nährstoffe anlangt (so entwickeln sich Gramineen wohl ohne Silizium, aber ihre Epikotyle bleiben glasig, brüchig, die Pflanzen sind nicht normal entwickelt), so ist bei ihrem Fehlen das Krankheitsbild wohl kein so ausgesprochenes wie bei Kalkmangel, immerhin kann man durch Zurückbleiben der Pflanzen in solchen Nährlösungen und durch ein Minus an Trockensubstanz darin die Erkrankung wahrnehmen. Wir können hier nicht auf die spezifische Bedeutung der einzelnen Nährstoffe (Phosphate und Sulfate für die Eiweißformation, Kali für die Neuanlage von Teilen usw.) eingehen. Schimper verwendet, um den Mangel eines Elementes in seiner Wirkung auf die Pflanze zu studieren, im Vergleich zu normalen, folgende Lösungen, wobei dieselben, mit Wasser im Verhältnis 1 : 4,8 verdünnt, zur Verwendung kommen:

normale Lösungen:

1.	2.	3.
6,0 g $Ca(NO_3)_2$	7,0 g KNO_3	7,0 g KNO_3
1,5 „ KNO_3	1,5 „ $MgSO_4$	1,5 „ $MgSO_4$
1,5 „ $MgSO_4$	1,5 „ NaCl	1,5 „ NaCl
1,5 „ K_3PO_4	600 „ H_2O	1,5 „ K_3PO_4
1,5 „ NaCl	K_2PO_4 im Überschuß	600,0 „ H_2O
600,0 „ H_2O		Gips im Überschuß

kalkarm:

4. 6,0 g KNO_3 | 1,5 g K_3PO_4 | 1,5 g NaCl
2,0 „ $Ca(NO_3)_2$ | 1,5 „ $MgSO_4$ | 600,0 „ H_2O

kalkfrei: 5. Lösung 2 und 3 außer Kalksalz;

kalifrei:

6. 7,0 g $Ca(NO_3)_2$
1,5 „ $MgSO_4$
1,5 „ NaCl
1,5 „ Na_3PO_4
600,0 „ H_2O;

7. dieselbe Lösung, aber anstatt Na_3PO_4 Zusatz von überschüssigem $Ca_3(PO_4)_2$;

magnesiafrei:

8. 6,0 g $Ca(NO_3)_2$
1,5 „ KNO_3
1,5 „ K_3PO_4
1,2 „ K_2SO_4
600,0 „ H_2O;

9. dieselbe, aber statt K_2SO_4 Gips im Überschuß;

stickstofffrei:

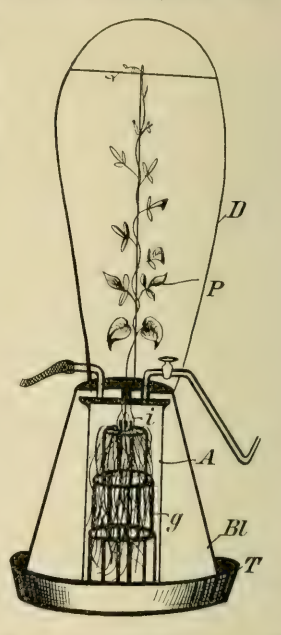
10. 1,5 g K_3PO_4
1,5 „ $MgSO_4$
1,5 „ KCl
600,0 „ H_2O;

phosphorfrei:

11. 0,5 g KNO_3
1,0 „ $Ca(NO_3)_2$
0,5 „ $Mg(NO_3)_2$
0,5 „ K_2SO_4
1000,0 „ H_2O
ohne weitere Verdünnung.

Hochsch. f. Bodenkultur, Wien 1, 443 (1913). Dieser Autor zwang die Pflanze durch entsprechende Verteilung der Wurzeln, die zu ihrer Ernährung notwendigen Stoffe aus zwei oder mehreren, an und für sich unvollkommen zusammengesetzten Nährmedien aufzunehmen und sah die Pflanze sich trotzdem normal entwickeln; dabei fand aber niemals ein direkter Übertritt der Mineralsalze von Wurzel zu Wurzel statt, sondern die Aschensubstanzen wurden zuerst zu den assimilierenden Organen geleitet, um von dort erst weiter verteilt zu werden. Von allen unentbehrlichen Nährstoffen fand sich nur Kali und Kalk in solchen Wurzelpartien (in ionisierter Form) vor, welche bei Ausschluß dieser Elemente kultiviert worden waren.

Als *dritte Methode der Pflanzenanzucht sei neben* der Sand- und Wasserkultur auch Arcichovskijs „Luftkultur“ erwähnt. Bei der Wasserkultur der Pflanzen entwickeln sich unter anderem die Knöllchen der Leguminosen unvollkommen oder gar nicht, und die Assimilation des molekularen Stickstoffs geht nicht normal vor sich, die Pflanzen gehen bald zugrunde, wenn man ihnen keinen gebundenen Stickstoff in der Nährlösung bietet, während sie in Erdkultur bekanntlich infolge ihrer Symbiose mit stickstoffassimilierenden Bakterien den Stickstoff der Luft als Nitratquelle auszuwerten vermögen. Die Luftkultur behebt diesen Mangel des flüssigen Substrates und ermöglicht überdies, was sowohl in Wasser- als auch in Sandkultur ebenfalls nur sehr schwierig beobachtet werden kann, eine Verfolgung des Gasaustausches der Wurzeln. Das Wurzelsystem der Pflanze befindet sich bei der Luftkultur in feuchter Luft, die Rolle der feuchten Kammer spielt ein umgestülpter Blumentopf, dessen Rand in eine Schale voll Wasser getaucht ist. Die Wurzeln werden sechs- bis zehnmal des Tags mit der not-



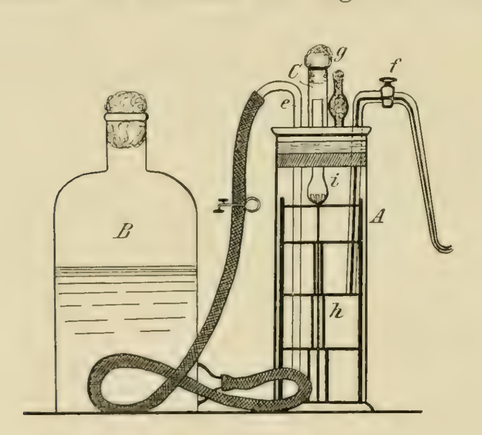


Fig. 15. Apparat von Arcichovskij zu Luftkulturversuchen.

B = Reservoir für Nährlösung; A Glaszylinder; C = Röhrchen für den Samen; i = siebförmiger Behälter; e = Füllröhrchen; g = Luftzuleitungsrohr; f = Röhrchen für Entnahme von Gasproben; h = gläsernes Gestell, auf dem die Wurzeln durch haarnadelförmig gebogene Glasstäbchen auseinandergehalten werden, wodurch ihr Zusammenkleben unterbleibt.

Fig. 16. Pisum sat. nach 22 Tagen in Luftkultur.

D = Drahtschlinge als Stütze für die Pflanze; P = Pflanze; i = Siebbehälter; A = Glaszylinder; g = Glasgestell; Bl = umgestürzter Blumentopf, der für das Wurzelsystem die Rolle der feuchten Kammer spielt: sein Rand taucht in die Wasserschale T. Die Würzelchen werden 6—10 mal im Tage mit der Nährlösung bespritzt. Um diese Spritzung bequem durchführen zu können, ist der Topf von oben nach unten in zwei ungleiche Teile zersägt, und durch Entfernung des kleineren kann ohne Störung der Pflanze das Wurzelsystem entblößt werden.

wendigen Nährlösung bespritzt. Um diese Bespritzung bequem durchführen zu können, ist der Blumentopf von unten nach oben in zwei ungleiche Teile zersägt, durch Entfernen des kleineren Teiles kann das Wurzelsystem bloßgelegt werden, ohne daß die Pflanze selbst geschädigt wird. Um bei dieser Bespritzung das Zusammenkleben der Wurzeln zu verhindern, wird ein gläsernes Gestell benutzt und die Wurzeln auf diesem Gestell mittels haarnadelförmig gebogener Glasstäbchen auseinandergehalten. Als Nährlösung für diese Versuche (stickstofffrei) wurde eine Kulturflüssigkeit folgender Zusammensetzung gebraucht: 1 g KH_2PO_4, 1 g $MgSO_4$, 2 g $CaSO_4$, Spuren $FeCl_3$, 2000 g

Wasser. Die Leguminosen entwickelten in dieser Kultur Wurzelknöllchen und wuchsen freudig. Um die Untersuchung des Gaswechsels zu ermöglichen, wird das Kulturgefäß zweckentsprechend abgeändert: Ein mit Bromwasser sterilisierter Samen wird in ein bei 120 ^{0} im Autoklaven sterilisiertes *Kulturgefäß folgender Einrichtung* gebracht (Fig 15). *A* ist ein gläserner Zylinder, durch dessen Korkpfropfen vier Röhrchen laufen; ins Röhrchen *C* kommt der Samen, ein sackförmiges, aus einigen Glasstäbchen gebildetes Gitter am Ende dieses Röhrchens *i* unterstützt den Samen, ohne den Austritt der Wurzel zu hindern; das Röhrchen *e* dient zum Füllen des Zylinders mit der Nährlösung aus dem Reservebehälter *B*. Das Röhrchen *g* dient für den Luftdurchtritt beim Füllen und Ausleeren des Zylinders, *f* für die Entnahme der Gasproben. Der Pfropfen des Zylinders wurde vor dem Sterilisieren mit Gips, nach demselben mit Paraffin gedichtet, ebenso wurden die Keimstengel im Glasröhrchen *C* in Gips eingeschlossen, um dem Apparat einen luftdichten Verschluß zu geben. Auf Fig. 16 ist eine 22 Tage alte Versuchspflanze von Pisum sat. abgebildet, die sich in Luftkultur ganz normal entwickelt hat. Die Luftkultur Arcichovskijs[1]) ist sicherlich für sehr viele ernährungsphysiologische Versuche sehr gut brauchbar, vor allem auch aus dem Grunde, weil die Sterilhaltung des Wurzelsystems, welche sonst die allergrößten Schwierigkeiten bietet, hier leichter durchführbar zu sein scheint. Ferner wird es dadurch möglich, ein Problem experimentell zu lösen, welches in der Tierphysiologie schon vielfach bearbeitet, zu wertvollen Einsichten geführt hat, das Problem des Hungerstoffwechsels, der Aufzucht von Pflanzen ohne Nährmaterial, also auf Kosten der eigenen Körpersubstanz. Die mit seinem Apparate ausgeführten Versuche sind noch zu wenig zahlreich, um ein sicheres Urteil zu gestatten; der Apparat und die Versuchsmethodik seien hier aber jedenfalls als vielversprechend verzeichnet.

III. Aschenanalyse.

Herstellung der Asche. Um die Aschenbestandteile einer Pflanze festzustellen, bedient man sich der Veraschung auf trockenem oder auf nassem Wege. Die trockene Veraschung wird der Biochemiker meist der nassen Veraschung vorziehen, weil er dort die Aschenbestandteile in einer seiner Analyse zugänglicheren Form vorfindet. Wichtig ist, daß die zu analysierenden Pflanzenteile zunächst mit Wasser gut abgespült und dann auf Glasplatten in einem Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden. Die erhaltene Trockensubstanz wird dann gemahlen oder in der Reibschale zerstoßen. Handelt es sich nicht um die Bestimmung der Asche einer festgesetzten Pflanzenquantität, sondern um Analyse der einzelnen Bestandteile einer Asche, so tut man gut, die Veraschung in den großen hessischen Tiegeln vorzunehmen, aus denen man dann nach Belieben Asche für die Analyse entnimmt[2]). Am schnellsten geht

[1]) V. Arcichovskij, Über die „Luftkultur" der höheren Pflanzen. Arbeiten aus d. bot. Lab. d. polyt. Inst. zu Nowotscherkassk, Russ. Journ. f. experim. Landwirtsch. Nr. 1, 1911.

[2]) L. v. Portheim und M. Samec, Über die Verbreitung der unentbehrlichen anorganischen Nährstoffe in den Keimlingen von Phaseolus vulg. Flora 94, 263 (1905), 99, 260 (1909). — W. Schimper, Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. Flora 73, 207 (1890).

die Veraschung in Platingefäßen vor sich, aber hier muß man besonders Rücksicht darauf nehmen, daß die Veraschung bei nicht zu hoher Temperatur vor sich gehe, da sonst leicht Chloride der Alkalimetalle, welche bei höheren Hitzegraden flüchtig sind, verloren gehen. Die Platinschale darf nur soweit erhitzt werden, daß gerade der Boden rotglühend ist. Ferner hat die Veraschung in Platin den Nachteil, daß dieses Metall mit Kohle Legierungen eingeht, die brüchig sind und mit der Zeit als spröde Stücke aus dem Platingefäß herausfallen; deshalb muß man sich auch hüten, die Platinschale mit rußender Bunsenflamme zu bespülen. Auch ein größerer Phosphorgehalt der Pflanzenteile, wie es namentlich bei Samen der Fall ist, kann das Platingefäß angreifen. Deshalb wird man im allgemeinen *Pflanzenteile in Porzellantiegeln oder Porzellanschalen veraschen*, von denen die dünnen Meißner oder Berliner Schalen auch recht schnelles Arbeiten ermöglichen und ganz gut über dem Gebläse behandelt werden können. Die Operation wird sehr beschleunigt, wenn man knapp über die Schale oder den Tiegel einen gewöhnlichen Lampenzylinder senkrecht befestigt, wodurch ein Luftzug erzeugt wird; freilich muß man entsprechende Vorsicht üben, damit nicht etwa Anteile der Asche dadurch verloren gehen. Niemals soll eine größere Menge Pflanzensubstanz auf einmal zur Veraschung in das Gefäß kommen, weil die an der Oberfläche verkohlenden Partien die inneren Teile einschließen und deren Verbrennung hartnäckig verhindern; hat man den Fehler einmal begangen, so ist es zweckmäßig, nach dem Abkühlen des Gefäßes etwas Alkohol auf die Pflanzensubstanz zu schütten und diesen zu entzünden, diese Operation eventuell (nach jedesmaligem Auskühlen der Schale) mehrere Male zu wiederholen. Überhaupt tut man gut, durch Bespülen mit dem Bunsenbrenner die Randpartien der Trockensubstanz in Brand zu setzen, wodurch die weiteren Partien durch die Flammen der eigenen Substanz verbrannt werden. Immerhin kann, auch in Platingefäßen, eine Veraschung von mehreren hundert Grammen Frischgewichtes einige Stunden in Anspruch nehmen, und selbst dann ist es nicht immer ganz möglich, eine völlig weißgebrannte Asche zu erhalten, der gar keine Kohlenteilchen mehr anhaften, gewöhnlich ist die Pflanzenasche mehr oder weniger grau, aber es bedeutet weniger, die Veraschung nicht bis zum allerletzten Rest durchgeführt zu haben, als durch allzustarkes Glühen immerhin bedenkliche Verluste zu erleiden. Übrigens kann man die Kohle separat bestimmen. Bei kleinen Samen gelingt es häufig nicht, durch Bürsten den anhängenden Sand oder andere Fremdkörper zu beseitigen, was dann natürlich zu Fehlern bei der Aschenbestimmung führen könnte. Man übergießt in diesem Falle die Samen nach H. Rose im Becherglase mit nicht zu viel destilliertem Wasser, rührt mit dem Glasstabe gut durch und bringt sie dann auf ein entsprechend weitmaschiges Sieb, das den aufgeschwemmten feinen Sand durchlaufen läßt, die Samenkörner aber zurückhält. Dabei dürfen die Samen nie lange mit dem Wasser in Berührung sein, weil sonst leichtlösliche Salze herausgeschwemmt werden können. Nachdem man das Durchsieben mit Wasser mehrmals wiederholt hat, bringt man die nassen Samen in ein grobleinenes Tuch und reibt sie zwischen den Falten desselben, wodurch auch der feine Sand entfernt wird. Zweckmäßig quetscht man die Samen vorher etwas, damit ihr Umherspringen vermieden wird. Bei sehr schwer verbrennlichen Substanzen geht man nach H. Rose

in der Weise vor, daß man zunächst zirka 100 g der getrockneten Substanz im Platin- oder Porzellantiegel auf einem Chamottedreieck bei dunkler Rotglut verkohlt, die verkohlte Masse im Porzellanmörser fein zerreibt, sie dann mit 20—30 g Platinschwamm innigst vermischt, das ganze portionenweise in eine flache Platinschale bringt und über dem Brenner unter Erzeugung eines Luftzuges erhitzt, indem man auf die Schale ein Chamottedreieck legt und darauf mittels einer Klammer einen Lampenzylinder senkrecht befestigt. Noch ehe der Inhalt der Schale zum Glühen gelangt ist, fängt jedes Kohlenteilchen an zu verglimmen, und die Oberfläche des schwarzen Gemenges überzieht sich mit einer grauen Schicht. Durch wiederholtes vorsichtiges Umrühren mit einem dicken Platindraht oder Glasstab befördert man die Verbrennung. Solange noch Kohle in der Masse vorhanden ist, erglüht sie, sobald sie aber vollständig verbrannt ist, hört jedes sichtbare Erglühen der Masse auf, auch wenn man sie stärker erhitzt. Bei der Analyse der Aschen wird man wohl hauptsächlich auf die Kationen Kali, Natron, Kalk, Magnesia, Eisen, Mangan, auf die Anionen Kieselsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Kohlensäure, Chlor Rücksicht zu nehmen haben, wenn auch natürlich in Einzelfällen Zink, Aluminium, Kupfer, Arsen auftreten kann. Zunächst muß man sich nun vor Augen halten, daß wohl alle diese Stoffe in den betreffenden Pflanzenteilen vorhanden sein konnten, daß aber gewisse, in erster Linie Karbonate und Sulfate, auch erst beim Verbrennungsprozeß der organischen Substanz entstanden sind; anderseits können durch den Prozeß des Einäscherns andere Bestandteile verloren gegangen sein, wovon schon die Rede war: aber nicht nur die Chloride der Alkalien können sich bei zu starker Erhitzung verflüchtigen, sondern auch kohlensaure Alkalien und Phosphorsäure können verloren gehen, indem sauere Phosphate der Alkalien mit Kohle geglüht, unter Reduktion und Verflüchtigung eines Teiles des Phosphors in neutrale Salze übergehen. Auf keinen Fall aber kann man einen Verlust an Chlor verhindern, weil die saueren Produkte der trocknen Destillation, welche das organische Material in den ersten Stadien der Verkohlung erfährt, Chlorwasserstoff austreiben. Man kann sich aber gegen solche Verluste an Phosphorsäure und Chlor schützen, indem man die einzuäschernde Substanz im Glühgefäße mit Soda oder Kalkkarbonat (gewogenen Mengen) vermischt, wodurch Phosphor und Chlor, statt zu entweichen, an diese gebunden werden. Aber auch durch solche Zusätze wird man niemals das Entweichen von Kohlensäure verhindern können, und die Schlüsse auf das Vorhandengewesensein von Karbonaten oder auch organisch-sauren Salzen in den Pflanzenteilen sind somit höchst unsicher. Aber auch die Sulfatbestimmung ist ungenau, weil man wohl die von vornherein vorhandenen Sulfate in der Asche vollständig erhält, aber vermehrt um diejenigen, welche durch Verbrennung des organisch gebundenen Schwefels entstanden sind; der Schluß auf den Schwefelgehalt des Pflanzenteils wird aber auch deshalb unsicher, weil ein Teil des organisch gebundenen Schwefels als Schwefeldioxyd entweichen kann: hier leistet die Methode der Einäscherung unter Zusatz von Platinmohr ersprießliches, weil durch diesen Katalysator Schwefeldioxyd zu Schwefeltrioxyd oxydiert und dieses an die beigemischten Basen gebunden wird. Da bei der Einäscherung ein unkontrollierbarer Teil der durch die Verkohlung entstandenen Alkali- und Erdalkalikarbonate in Oxyde übergeführt wird, ist es zweckmäßig,

die Asche mit einer genau bestimmten Lösung von Ammonkarbonat am Wasserbade einzudampfen und so die Rückverwandlung in Karbonate zu bewirken, worauf man wieder trocknet und so lange mäßig erhitzt, bis alles Wasser ausgetrieben ist. Die Magnesia, wenn sie als solche in der Asche vorhanden gewesen war, wird durch dieses Verfahren nicht in kohlensaures Salz übergeführt. Infolgedessen ist es gut, die Kohlensäure, welche in der Asche vorhanden ist, dadurch zunächst zu bestimmen, daß man die Asche in einem kleinen Kölbchen, das mittels Stöpsel und Glasrohr mit Natronkalkröhren oder mit Kalilauge gefüllten Absorptionsapparaten verbunden ist, mit Schwefelsäure übergießt und durch Absorption der unter gelindem Erwärmen des Kolbens ausgetriebenen Kohlensäure und Wägung der Absorptionsgefäße den Gehalt an Kohlensäure feststellt. Zieht man vom ursprünglichen Gewichte der Asche das der darin vorhandenen Kohlensäure ab, so erhält man das Gewicht der Reinasche, nachdem man in einer anderen Probe auch noch das Gewicht der unverbrannten Kohlenteilchen festgestellt hat, indem man die Asche in Salpetersäure (1 : 1) löst und die darin unlösliche Kohle auf einem bei 110 ^{0} getrockneten, gewogenen Filter sammelt. Die Aschen krautiger Pflanzen und Hölzer sind im wesentlichen reich an Alkali- und Erdalkalikarbonaten, die der Samen vorwiegend an Phosphaten und gewisse Kulturpflanzen, wie Gramineen, Equisetaceen, Ericaceen, liefern stark kieselsäurehaltige Aschen. Man führt nun folgende qualitative Proben durch: Die Asche wird mit Wasser gekocht und mit Lackmuspapier ihre sauere oder alkalische Reaktion festgestellt; einen anderen Teil der Asche übergießt man mit verdünnter Salzsäure und beobachtet, ob ein auf Karbonate hinweisendes Aufbrausen stattfindet; ist das der Fall, dann kann man sicher sein, daß sich die Asche in konzentrierter Salzsäure vollkommen löst; übrigens lösen sich hauptsächlich nur jene Aschen, welche viel Kieselsäure enthalten, nicht in Salzsäure. Daher kann man den Betrag einer Asche an Kieselsäure am einfachsten so bestimmen, daß man die mit konzentrierter Salzsäure gekochte Asche nach dem Verdünnen mit Wasser abfiltriert, den Rückstand gründlich auswäscht, trocknet und nach dem Veraschen des Filters und Glühen des Rückstandes wägt. Bei genaueren Analysen ist der auf der Filterumhüllung ersichtliche Aschengehalt des Filters zu berücksichtigen. Die salzsaure Lösung wird dann nach dem Erhitzen, wodurch der größte Teil der Salzsäure ausgetrieben wird, mit Natriumazetat versetzt (man kann auch mit Ammoniak neutralisieren und dann mit Essigsäure versetzen), wodurch bei fast allen Aschen ein gelblichweißer Niederschlag von in Natriumazetat unlöslichem Eisenphosphat der Asche entsteht. Nun kann aber außer dieser an Eisen gebundenen Phosphorsäure noch andere in der Asche enthalten sein; um darüber ins klare zu kommen, filtriert man den Niederschlag und versetzt das Filtrat mit Ammoniak im Überschuß: entsteht kein Niederschlag oder ein braunroter von Eisenhydroxyd, so ist keine weitere Phosphorsäure vorhanden, wohl aber, wenn ein weißer Niederschlag von Kalk- oder Magnesiaphosphat entsteht, welcher anzeigt, daß mehr Phosphorsäure vorhanden ist, als sich an Eisen binden kann. Versetzt man die salzsaure Lösung der Asche mit einer Auflösung von gelbem Blutlaugensalz, so zeigt die entstehende blaue Fällung oder Färbung die Gegenwart von Eisen an. Auf Mangan prüft man, indem man einen Teil der Asche nach dem Vermengen mit Soda und eventuell einigen Körnchen

Salpeter auf dem Platinblech oder Porzellantiegeldeckel über dem Bunsenbrenner schmilzt, wobei im Falle der Anwesenheit von Mangan eine grüne Schmelze entsteht, die sich in Wasser mit grüner Farbe löst, welche Lösung an der Luft (momentan bei Zusatz eines Tropfens Salzsäure) bald rot wird. Der organisch gebundene Schwefel kann beim Veraschen mitunter an die Alkalien oder Erdalkalien in Form eines Sulfids gebunden sein, wovon man beim vorsichtigen Übergießen der Asche mit Salzsäure Kenntnis erhält. Es entwickelt sich nämlich Schwefelwasserstoff, der sich durch seinen Geruch oder durch Schwärzung eines über die Probe gehaltenen, mit Bleiazetat getränkten Filtrierpapieres zu erkennen gibt. Nimmt man die Befeuchtung der Asche mit Salzsäure auf einer Silbermünze oder einem Silberblech vor, so schwärzt sich dieses infolge Bildung von Schwefelsilber (Heparreaktion). Die Anwesenheit von Baryt oder Strontian in der Asche gibt sich durch die sehr empfindliche Flammenreaktion zu erkennen. Man glüht einen Platindraht in der nicht leuchtenden Bunsenflamme so aus, daß die stets vorhandene gelbe Natriumfärbung verschwindet, taucht dann den Draht in die mit Salzsäure befeuchtete Asche und hält ihn in den äußeren Flammenmantel nahe der Flammenbasis, indem man von da allmählich in die Höhe geht. Baryt zeigt sich durch gelbgrüne, Strontian durch karminrote, Kalk durch gelbrote Flammenfärbung an. Übrigens sind die beiden erstgenannten Erdalkalien höchstens in Spuren in Aschen vorhanden, es wird sich also hauptsächlich um Kalk handeln. Behandelt man die salzsaure Lösung der Asche nach dem Neutralisieren durch Ammoniak mit einer Auflösung von oxalsaurem Ammon, so zeigt ein weißer, in Essigsäure unlöslicher, dagegen in Mineralsäuren löslicher weißer Niederschlag (oxalsaurer Kalk) die Gegenwart von Kalk an. Auch K a l i und N a t r o n kann man durch Flammenfärbung erkennen, wobei im Falle des Kali zu berücksichtigen ist, daß die fahlblaue Färbung der Kaliflamme durch gleichzitig anwesendes Natron verdeckt wird, daß man aber Kali an einer rosa gefärbten Flamme entdecken kann, wenn man die Flamme durch ein blaues Glas (Kobaltglas) betrachtet, und daß Natron durch seine Ubiquität leicht ein Vorhandensein in der Asche vortäuscht. Man mache sich deshalb überhaupt zur Regel, die bereitete Asche in gut schließenden Stöpselgläsern sofort nach ihrer Herstellung aufzubewahren und den Platindraht vor der Probe auf Natrium sorgfältig auszuglühen. Tritt dann mit der Asche intensive Gelbfärbung der Flamme ein, so kann man auf das Vorhandensein von Natronsalzen in der Asche schließen. Auf alle Fälle aber wird man sich eine Erhärtung durch die feuchte Probe verschaffen, indem man die möglichst konzentrierte Lösung der Asche mit einigen Tropfen Platinchlorid versetzt, worauf, besonders bei Zusatz von Alkohol, sich bei Anwesenheit von Kali ein schwerer goldgelber Niederschlag von Kalichloroplatinat zeigt. Auch mit Weinsäure, unter Zusatz von etwas Natriumazetat, läßt sich ein weißer Niederschlag von Weinstein gewinnen. Auf Natrium prüft man durch Fällen eines weißen Niederschlages von Natriumpyroantimoniat durch Zusatz einer filtrierten, konzentrierten Auflösung von pyroantimonsaurem Kali. Ein guter Nachweis für Kali ist auch die gelbe Fällung, welche mit frisch bereitetem Kobaltnatriumnitrit entsteht. Auf M a g n e s i a prüft man, indem man die salzsaure Lösung nach Neutralisieren mit Ammoniak mit Natriumphosphat versetzt, worauf bei Anwesenheit von Magnesia ein weißer,

kristallinischer Niederschlag entsteht; fällt längere Zeit kein Niederschlag heraus, so kann man durch Reiben der inneren Eprouvettenwandung mit dem Glasstab oder auch durch 24 stündiges Stehen häufig eine Fällung erzielen; es ist aber darauf Rücksicht zu nehmen, daß man die Magnesia erst nachweisen kann, nachdem man den Kalk vollständig mit Ammonoxalat entfernt hat, also im Filtrate der Kalkfällung. Den Nachweis von Karbonaten, also des Anions Kohlensäure, führt man, wie schon erwähnt, in der Weise, daß beim Übergießen der Asche mit einer Mineralsäure oder Essigsäure, Weinsäure usw. Aufbrausen erfolgt; das sich entwickelnde Gas ruft in Barytwasser Trübung hervor: ein kleines Glühröhrchen ist mit einem durchbohrten Pfropfen versehen, durch dessen Bohrung ein knieförmig gebogenes Glasrohr zieht, das in eine mit Barytwasser gefüllte Eprouvette taucht. Die Asche in dem Glühröhrchen wird mit verdünnter Salzsäure versetzt, der Stöpsel eingepaßt und das Gas, eventuell unter gelindem Erwärmen, in das Barytwasser geführt. Die klare Lösung der Asche in Salzsäure liefert (nach dem Filtrieren), mit einigen Tropfen Chlorbaryumlösung versetzt, einen weißen, schweren, feinkörnigen Niederschlag von $BaSO_4$: Nachweis der Sulfate. Auf Phosphate prüft man in der Weise, daß man die Asche unter Erwärmen mit Salpetersäure extrahiert und mit molybdänsaurem Ammon versetzt, worauf bei Anwesenheit von Phosphorsäure ein gelber Niederschlag oder eine gelbe Färbung von Ammoniumphosphomolybdat entsteht. Das Reagens, welches stets frisch bereitet sein muß, stellt man sich durch Auflösen von molybdänsaurem Ammon in starker Salpetersäure her, die Probe wird nach Versetzen mit dem Reagens erwärmt (nicht gekocht). Die klare, salpetersaure Lösung, die mit HNO_3 aus der Asche gewonnen wurde, wird zur Probe auf Chloride mit einer Auflösung von Silbernitrat versetzt, es entsteht ein weißer, käsiger, in Ammoniak löslicher und aus dieser Lösung durch Salpetersäure wieder fällbarer Niederschlag von Chlorsilber. Kieselsäure wird schon dadurch nachgewiesen, daß beim Kochen der Asche mit Salzsäure oder Salpetersäure ein unlöslicher Rückstand zurückbleibt. Dieser wird aber beim Erhitzen mit Flußsäure in der Platinschale gelöst. Erzeugt man am Platindraht eine Borax- oder Phosphorsalzperle und taucht diese heiß in den Kieselrückstand, so daß etwas daran haften bleibt, und glüht von neuem, so zeigt die Perle nach dem Erkalten eigenartige, nach allen Richtungen von einem Zentrum ausgehende Sprünge, das sogenannte Kieselskelett.

Quantitative Analyse: Die verschiedenen Bestandteile der Asche weist man am besten in zwei verschiedenen Partien der Asche nach. In A bestimmt man durch Austreiben mit Schwefelsäure und Auffangen in gewogenen geeigneten Absorptionsgefäßen die Kohlensäure, wiewohl ihre Ermittlung aus den schon erwähnten Gründen an und für sich ohne große Bedeutung ist; ferner das Chlor, indem man die wässerige Auskochung der Asche nach dem Filtrieren mit Silbernitrat fällt, den Niederschlag abfiltriert, bei 110° trocknet und dann nach den Regeln der quantitativen Analyse (möglichste Befreiung des trockenen Filters von dem Chlorsilber, vorherige Veraschung des Filters in einem gewogenen Porzellantiegel unter Regeneration des reduzierten Silbers mit einem Tropfen Salpetersäure und darauffolgendes Glühen der Hauptmasse des Niederschlages im Tiegel über kleiner Flamme bis zum beginnenden Schmelzen) glüht und wägt. In der Portion B be-

stimmt man dann alle übrigen Bestandteile, in erster Linie die Alkalien und Erdalkalien. Zunächst müssen wir aber, wenn wir mit Reinasche arbeiten wollen, Kieselsäure, Sand und Kohlenreste feststellen. Die Asche wird in der Porzellanschale mit Wasser übergossen und nach und nach Salzsäure zugefügt. Ist die Asche reich an Karbonaten, so kann leicht beim Aufbrausen durch Verspritzen ein Verlust eintreten; daher setzt man auf die Schale jedenfalls einen passenden größeren Trichter, in dessen Rohr ein kleiner Trichter gesteckt wird, durch den der Salzsäurezusatz erfolgt. Nach gelindem Erhitzen, wodurch der letzte Kohlensäurerest ausgetrieben wird, spritzt man den Trichter in die Schale ab, verdampft am Wasserbad unter Umrühren bis zur Trockne, wobei man mit dem Glasstab die Klümpchen zerteilt und auch etwa vorhandenen Sand am Knirschen unter dem Glasstab erkennt. Nach dem Erkalten befeuchtet man die trockene Asche mit konzentrierter Salzsäure, erhitzt, nachdem man die Säure einige Zeit hat einwirken lassen, am Wasserbade mit einer kleinen Menge Wassers und filtriert schließlich nach dem Verdünnen der Flüssigkeit durch ein getrocknetes, gewogenes Filter. Kohle, Sand, Kieselsäure bleiben am Filter zurück; man wäscht gründlich mit heißem Wasser (bis ein Filtrattropfen mit Silbernitrat keine Opaleszenz mehr gibt), trocknet bei 110 ^{0}, äschert das Filter ein und erfährt so, da die Kohle verbrennt, aus der Differenz den Betrag der Kohle und Kieselsäure. Diese letztere prüft man auf ihre Reinheit durch Erhitzen mit Flußsäure und Schwefelsäure in der Platinschale. Hat man im Filter neben Kohle und Kieselsäure noch Sand, so bringt man den Niederschlag von Sand, Kohle und Kieselsäure ohne Filter in eine Platinschale und erhitzt eine halbe Stunde mit verdünnter Natronlauge oder konzentrierter Sodalösung; dabei löst sich nach und nach alle Kieselsäure auf, ohne daß Sand oder Kohle angegriffen werden. Nachdem man durch dasselbe Filter filtriert hat, wäscht man das ungelöste gut aus, trocknet bei 110 ^{0} und bringt es bei der Wägung als Kohle und Sand in Rechnung. Die salzsaure Lösung, die von Kieselsäure, Kohle usw. abfiltriert worden ist, samt dem Waschwasser sammelt man in einem 200 ccm fassenden Meßkolben, füllt bis zur Marke auf und mißt nun mit der Pipette dreimal je 50 ccm ab, die man je zur Bestimmung der Alkalien, der Schwefelsäure, der Erdalkalien und Eisenoxyds benutzt. Die letzten 50 ccm werden für unvorhergesehene Fälle aufbewahrt.

Bestimmung des Eisens und der alkalischen Erden: Die Flüssigkeit wird vorsichtig mit Ammoniak neutralisiert, bis eben ein Niederschlag entsteht, dann konzentrierte Ammoniumazetatlösung (zirka 30 ccm) und so viel freie Essigsäure dazu gegeben, bis die Flüssigkeit schwach danach riecht, gelinde erwärmt und der sich bildende gelblichweiße Niederschlag von Ferriphosphat sofort abfiltriert. Ist das Filtrat nicht rot, so wäscht man ihn mit heißem, etwas Ammonnitrat enthaltendem Wasser aus, trocknet, glüht und wägt als $FePO_4$. Ist dagegen das Filtrat rot und die Niederschlagsmenge bedeutend, so wäscht man ihn wiederholt, löst in möglichst wenig Salzsäure, fügt Ammoniak hinzu, bis eben ein bleibender Niederschlag entsteht, dann Ammonazetat und etwas freie Essigsäure. Nun erst kann man filtrieren und wie oben angegeben vorgehen. Enthält aber der Niederschlag (was an der Rotfärbung des Filtrates zu sehen ist), basisch phosphorsaures Eisenoxyd, so ist es genauer, den Niederschlag von Ferriphosphat zu glühen und zu wägen, in Salzsäure zu lösen und in

der Lösung das Eisenoxyd nach Versetzen mit Salmiak und Ammoniak durch Schwefelammonium zu fällen, zu glühen und zu wägen und aus der Differenz die mit demselben verbunden gewesene Phosphorsäure zu bestimmen. In der essigsauren Flüssigkeit, die vom Ferriphosphat abfiltriert ist, fällt man nach Zusatz von Salmiak und einem geringen Überschuß von Ammoniak durch oxalsaures Ammon den Kalk. Man muß für einen reichlichen Überschuß von Ammonoxalat sorgen, damit die vorhandene Magnesia vollkommen in Magnesiaoxalat verwandelt wird, welches gelöst bleibt. Die Flüssigkeit wird jetzt 12 Stunden an einem warmen Orte stehen gelassen, dann durch ein Filter gegossen, der Niederschlag auf dem Filter in Salzsäure gelöst und nochmals in gleicher Weise mit Ammoniak und Ammonoxalat gefällt, die Magnesia befindet sich in den Filtraten und wird aus diesen durch Zusatz von Ammoniak und Natriumphosphat gefällt. (Über die Kautelen bei dieser Bestimmung siehe Fresenius, Anleitung zur quantitativen chemischen Analyse, 6. Auflage, 1903, I pag. 556.) Den noch feuchten Kalkoxalatniederschlag, der ausgewaschen worden ist, bringt man samt Filter in ein größeres Becherglas und löst ihn darin in sehr verdünnter Schwefelsäure unter Erwärmen. Dadurch wird die Oxalsäure ausgetrieben und der Kalk in Gips verwandelt. Man filtriert und bestimmt die freigewordene Oxalsäure in der Hitze durch Titrieren mit $\frac{n}{10}$ Permanganatlösung, die man mit Oxalsäurelösung bestimmten Gehaltes genau eingestellt hat, bis zum Eintreten der bleibenden Rosafärbung. (6,303 g Oxalsäure werden in 1000 ccm Wasser gelöst; von dieser Lösung entsprechen 25 ccm = 24,3 ccm Permanganat.) Von $\frac{n}{10}$ Permanganatlösung entspricht 1 ccm = 2,8 mgCaO. Der Niederschlag von Ammoniummagnesiaphosphat wird abfiltriert, getrocknet, geglüht und als Magnesiumpyrophosphat gewogen.

Bestimmung der Alkalien: Die Flüssigkeit wird mit etwas Eisenchlorid versetzt und zur Trockene verdampft, der Rückstand mit heißem Wasser, dem einige Tropfen Salzsäure zugesetzt wurden, aufgenommen und filtriert. Die Lösung wird mit Chlorbarium versetzt, so lange noch ein Niederschlag von Bariumsulfat entsteht, dann mit Barytwasser stark alkalisch gemacht, filtriert und der Niederschlag gut ausgewaschen. Auf diese Weise ist sämtliche Schwefelsäure, die man in der dritten Probe für sich durch Fällen mit Bariumchlorid bestimmt, ferner alle Phosphorsäure, Eisenoxyd, Manganoxydul und Magnesia entfernt. Im Filtrat wird durch Kochen mit Ammoniak und Ammonkarbonat der Rest der Erdalkalien gefällt, der Niederschlag abfiltriert und mit heißem Wasser gewaschen. Filtrat und Waschwasser werden in einer nicht zu großen Porzellanschale vereinigt, am Wasserbade zur Trockene verdampft und die Ammonsalze über ganz kleiner Bunsenflamme abgeraucht (die Ammonsalze haben die Eigentümlichkeit, leicht über den Rand der Schale zu „kriechen“, weshalb man beim Abrauchen dabeistehen und durch zweckmäßige Verwendung der Flamme die Ränder gleichmäßig bespülen muß). Die Fällung mit Ammoniak und Ammonkarbonat muß übrigens zur völligen Entfernung der Erdalkalien mehrmals wiederholt werden, worauf man schließlich in eine gewogene Platinschale hineinfiltriert, wieder auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft, die Ammonsalze neuerdings ab-

raucht, den Rückstand mit Salzsäure durchfeuchtet, trocknet, vorsichtig glüht, bis eben die Chloride zu sintern beginnen, und wägt. Dann werden die Alkalichloride in heißem Wasser, dem einige Tropfen Salzsäure zugesetzt sind, gelöst, dann ein Überschuß von Platinchlorid zugesetzt, die Lösung der Platindoppelsalze bis zur Sirupkonsistenz eingedampft, mit starkem Alkohol aufgenommen, durchgerührt und nach zwei Stunden das in fester Form abgeschiedene Kalichloroplatinat durch ein getrocknetes, gewogenes Filter abfiltriert, mit Alkohol gut ausgewaschen, getrocknet und gewogen. 100 Teile K_2PtCl_6 = 76,41 Teilen KCl. Die Differenz wird auf Natrium berechnet. Zum Abfiltrieren der Niederschläge benutzt man zweckmäßig die Goochtiegel, deren Beschickung wohl nicht ganz einfach ist, die aber, einmal instand gesetzt, für eine Reihe von Analysen dienen und viel Mühe ersparen; vor allem erspart man sich das Veraschen des Filters, welches immer durch seine reduzierende Wirkung Ungenauigkeiten bei der Analyse hervorruft; ferner geht das Filtrieren viel rascher vor sich als über dem gewöhnlichen Filter. Der Goochtiegel (Fig. 17) besteht aus einem Porzellantiegel mit Siebboden, der mit feinem Asbest belegt wird. Zu diesem Zwecke verwendet man feingeschnittenen, mit Königswasser gewaschenen, geglühten Asbest, der ein für allemal in einem gut verschlossenen Pulverglas aufbewahrt wird. Man schlemmt nun eine kleine Menge Asbest mit Wasser in einer Eprouvette auf und gießt die Aufschwemmung über den Siebboden. Zuunterst soll gröberer Asbest liegen, wie man ihn erhält, wenn man nach dem Aufschütteln kürzere Zeit sedimentieren läßt. Der Asbestbelag soll gerade so stark sein, daß man, den Tiegel gegen das Licht gehalten, von der Tiegelöffnung durchblickend, die Löcher nicht mehr sieht. Dann wird eine kleine Siebplatte auf das Asbestpolster gelegt und noch etwas feiner (durch längeres Sedimentieren erhaltener) Asbest darauf gelegt. Man wäscht nun so lange mit Wasser aus, bis keine Asbestflöckchen mehr im Filtrat erscheinen. Alle diese Operationen nimmt man an der Saugpumpe unter schwachem Druck vor, indem man den Tiegel in einem passenden Kautschukschlauch befestigt, der an einem in einem Absaugekolben steckenden Glasaufsatz montiert ist. Den so vorbereiteten Tiegel stellt man in einen größeren Porzellantiegel, trocknet ihn bei 120 ° und wägt ihn. Der Tiegel wird nun in seinem Kautschukhalter an die Pumpe gebracht und der betreffende Niederschlag abgesogen und gewaschen; nun bringt man den Goochtiegel in seinen größeren Tiegel, in welchem er getrocknet, geglüht und gewogen wird. Nunmehr kann man sofort eine zweite Bestimmung anschließen, d. h. einen Niederschlag derselben Art sofort über dem Goochtiegel filtrieren und bestimmen. Dies kann solange fortgesetzt werden, bis (nach 20—25 Bestimmungen) die Niederschlagsdecke so stark wird, daß das Filtrieren an der Pumpe nicht schneller vor sich geht als dies bei gewöhnlichem Druck der Fall wäre. Dann wird das Asbestpolster

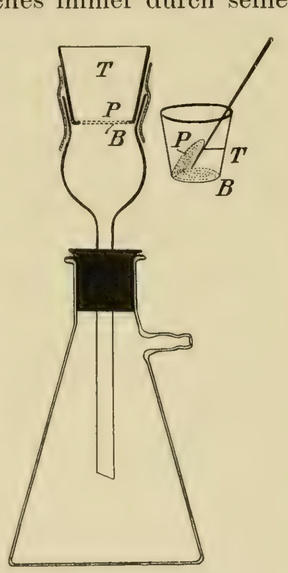


Fig. 17. Goochtiegel. T = Porzellantiegel; P = Siebplatte; B = Siebboden.

samt den daran haftenden Niederschlägen herausgekratzt und der Tiegel von neuem beschickt. Beim Filtrieren darf natürlich der Asbestbelag nicht aufgerührt werden, was man durch festes Legen des Asbestes (Festdrücken mit einem Glasstab) und eben durch die Siebscheibe verhindert. Vielfach wird statt der Glühasche eine feuchte Veraschung vorgezogen, welche für Pflanzenaschen, wo es auf völlige Veraschung und verlustlose Gewinnung der Alkalien größtenteils ankommt, Vorteile bietet. Die feuchte Veraschung erfolgt durch Oxydation der Pflanzenteile mittels konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure in der Wärme; sie wird am besten in den Rundkolben aus Jenaer Geräteglas mit langem Hals vorgenommen, wie man sie auch für die Kjeldahlsche Stickstoffbestimmung verwendet (Fig. 18). Der Kolben wird etwas schief in einer Klammer unter einem gut ziehenden Abzug befestigt und auf einem mit Asbestscheibe versehenen Drahtnetz aufgestellt. In den Hals des Kolbens kommt ein Trichter mit kurzem Rohr, durch das 5—10 ccm eines Gemisches aus gleichen Teilen konzentrierter Salpetersäure und konzentrierter Schwefelsäure auf die zerkleinerte Pflanzensubstanz gegossen werden, welche aber hier nicht vorher getrocknet zu werden braucht. Sehr wichtig ist eine anfänglich nicht zu starke Erwärmung, obwohl man bei Pflanzenaschen in dieser Beziehung nach meinen Erfahrungen nicht zu ängstlich zu sein braucht. Es erheben sich braune Nitrosodämpfe, welche allmählich schwächer werden, worauf man neues (aber möglichst nicht über 10 ccm auf einmal) Säuregemisch zufügt. Um zu entscheiden, ob die Veraschung beendet ist, läßt man die Nitrosodämpfe völlig entweichen und beobachtet, ob die Flüssigkeit sich beim weiteren Erhitzen noch bräunt oder schwärzt, worauf man von neuem für Zusatz des Säuregemisches sorgen müßte, oder hell bleibt. Ist letzteres der Fall, dann ist die Veraschung beendet, worauf man nach dem Erkalten einen Überschuß von Wasser hinzufügt und aufkocht, bis keine braunen Dämpfe mehr entweichen. Es soll nicht mehr Säuregemisch zugesetzt worden sein, als eine Volumenvermehrung um 100 ccm ausmachen würde; ist man an dieser Grenze angelangt, setzt man statt des Gemisches bloße Salpetersäure zu, erhitzt dann zur Konzentration der Schwefelsäure, bis sich die Flüssigkeit wieder schwarz zu färben beginnt, und fährt dann mit dem Zutropfen von höchstens 10 ccm Salpetersäure auf einmal fort. In der „feuchten Asche" kann man natürlich den Betrag der Gesamtasche nicht ermitteln, ferner weder den Schwefelgehalt noch den Gehalt an Säuren, welche durch Schwefelsäure ausgetrieben werden. Zur Bestimmung des Eisens in der Säureasche gießt man nach R. Hanslian[1]) das eisenhaltige Säuregemisch aus dem Rundkolben in ein Becherglas, welches das dreifache Volumen destillierten Wassers enthält, und kocht

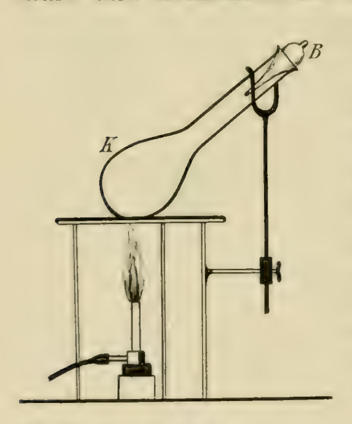


Fig. 18. Rundkolben *K* zur feuchten Veraschung; *B* = Glasaufsatz, der das Herausspritzen von Material beim Entweichen der Säuredämpfe verhindert.

[1]) H. Aron, Aschenanalyse, Abderhaldens Handbuch d. biochem. Arbeitsmeth. 1, 414, R. Hanslian, ebendas. 6, 378.

etwa 10 Minuten lang bis zum Verschwinden der braunen Dämpfe. Die Aschenlösung gibt man in den Rundkolben zurück und fügt aus einer Pipette Zinkphosphatlösung hinzu, dann unter starker Kühlung vorsichtig Ammoniak, bis der weiße Zinkphosphatniederschlag gerade bestehen bleibt. Das Zinkphosphat wird in der Weise hergestellt, daß man zirka 25 g $ZnSO_4$ und zirka 100 g Na_2HPO_4 jedes für sich in Wasser löst und die Lösungen in einem Litermeßkolben vereinigt. Der ausfallende Zinkphosphatniederschlag wird durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gerade gelöst und die Lösung dann zum Liter aufgefüllt. Zu dem Niederschlag in dem Rundkolben der Säureasche fügt man dann noch so viel Ammoniak, bis sich der Niederschlag eben gelöst hat, und erhitzt auf dem Asbestdrahtnetz in schief liegendem Rundkolben mit starker Flamme 20 Minuten lang zu heftigem Sieden. Es fällt wieder ein Niederschlag aus, den man einen Moment absitzen läßt, worauf die noch heiße Flüssigkeit durch ein kleines, glattes Filter gegossen wird, ohne daß man den Niederschlag aufrührt. Das Filtrat darf mit dem Rhodanreagens keine Rötung geben; sollte dies der Fall sein, so muß das Filtrat wieder in den Kolben gebracht, weitere 20 Minuten erhitzt und neuerdings geprüft werden. Kolben und Filter wäscht man mit destilliertem Wasser aus, bis 5 ccm des Filtrates mit einigen Jodkalikristallen und einem Tropfen HCl Stärke nicht bläuen, und gibt zu dem im Rundkolben befindlichen Niederschlag 20 ccm konzentrierte HCl mittels Pipette; durch vorsichtiges Schwenken des Kolbens bringt man den Niederschlag in Lösung; den Filter samt Niederschlag löst man quantitativ vom Trichter, bringt ihn in eine kleine Porzellanschale und fügt die salzsaure Lösung aus dem Kolben hinzu. Das Ganze wird auf dem Wasserbade 10 Minuten lang digeriert, mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers, mit dem man vorher den Rundkolben ausgespült hat, verdünnt und durch ein glattes Filter in einen 250 ccm Meßkolben filtriert. Kolben und Filter wird solange mit heißem, destilliertem Wasser gewaschen, bis ein Tropfen des ablaufenden Filtrates mit Rhodankali-Salzsäure keine Rötung mehr gibt. Sind 250 ccm im Meßkolben, so befindet sich das gesamte Eisen darin; nun wird mit Natronlauge neutralisiert, bis eben die erste Trübung durch den ausfallenden Eisenphosphatniederschlag auftritt, die man durch einige Tropfen Salzsäure zum Verschwinden bringt; schließlich füllt man auf 250 ccm auf. Von dieser Lösung pipettiert man je 50 ccm in einen weithalsigen Kolben von zirka 100 ccm Inhalt, fügt 5 ccm Stärkelösung hinzu, verdrängt durch längeres Einleiten von Kohlensäure die Luft völlig aus Kolben und Flüssigkeit, setzt 3 g Jodkali hinzu, verschließt den Kolben, schüttelt und läßt 20 Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Dadurch ist sämtliches Jod aus dem Jodkali ausgeschieden und wird nun mit Thiosulfatlösung zurücktitriert. Sobald die Blaufärbung über Rotviolett verschwunden ist, leitet man wieder kurze Zeit Kohlensäure ein, verschließt und beobachtet, ob nach 2—3 Minuten Nachbläuung eintritt. Ist dies der Fall, so entfärbt man durch weiteren Zusatz von Thiosulfat. Tritt wiederholt nach der Entfärbung Bläuung ein, so setzt man bei der Titration eines nächsten Teiles von 50 ccm statt 3 g Kalijodid deren 5 g zu, aber in den meisten Fällen wird man mit 3 g das Auslangen finden und die Bestimmung binnen 20 Minuten beendigen können. Das Prinzip der Bestimmung beruht darauf, daß der Niederschlag von Zinkammoniumphosphat quantitativ alles Eisen mitfällt, durch das nach dem Auf-

lösen in HCl aus JK äquivalente Mengen Jod freigemacht werden, die man mit einer auf zirka $\frac{n}{250}$ eingestellten $Na_2S_2O_3$-Lösung zurücktitriert. Dieselbe wird so hergestellt, daß man 40 g $Na_2S_2O_3$ in zirka 1000 g H_2O löst und die Lösung in einer Flasche aus dunklem Glase aufbewahrt. Von dieser Stammlösung verdünnt man erst vor der Bestimmung einen aliquoten Teil und stellt ihn gegen Eisenchloridlösung ein. Diese Eisenchloridlösung, gegen welche die auf das zirka 40 fache verdünnte Stammlösung eingestellt wird, enthält 2 mg Fe in 10 ccm. Sie wird bereitet, indem man genau 20 ccm Fresenius scher Eisenchloridlösung, welche 10 g Fe im Liter enthält und von Kahlbaum, Berlin, bezogen werden kann, in einen Litermeßkolben fließen läßt, mit zirka 20 ccm konzentrierter HCl versetzt und dann genau auf einen Liter auffüllt. Diese Lösung ist, in brauner Flasche aufbewahrt, lange haltbar. 10 ccm der Eisenlösung werden in einem Kolben mit etwas Wasser, einigen Kubikzentimetern Stärkelösung (hergestellt durch 10 Minuten langes Kochen von 1 g löslicher Stärke in 500 ccm H_2O) und einigen Kristallen JK versetzt, auf zirka 50° erwärmt und mit der verdünnten Thiosulfatlösung titriert, bis die blaue Färbung über Rotviolett mindestens 5 Minuten lang verschwunden bleibt. Die verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfatlösung entsprechen bei Anwendung von 10 ccm der Fresenius schen Lösung gerade 2 mg Fe.
Zur Trennung und Bestimmung von Ca, Mg und Phosphorsäure in der Säuregemischasche geht man in der Weise vor, daß man den Inhalt des Kolbens nach dem Erkalten in ein großes Becherglas schüttet, das ein der Lösung gleich großes Volumen destillierten Wassers enthält. Man gießt in dünnem Strahle ein und mindert die Heftigkeit der Entwicklung von nitrosen Dämpfen durch Einstellen des Becherglases in Eiswasser. Dann wird der Kolben mit dem gleichen Volumen Wasser ausgespült und die Flüssigkeiten vereinigt. Um die nitrosen Dämpfe völlig auszutreiben, erhitzt man schließlich das Becherglas einige Minuten am Asbestdrahtnetz, läßt erkalten, filtriert von etwa ausgeschiedener Kieselsäure ab und fügt unter Umrühren das vierfache Volumen 96-prozentigen Alkohols zu. Nach 12 stündigem Stehen in der Kälte filtriert man durch ein glattes Filter ab und wäscht mit verdünntem Alkohol aus. Man trocknet Trichter und Inhalt im Trockenschrank, trennt Niederschlag vom Filter, verascht letzteres im Platintiegel und fügt die Hauptmenge des Niederschlages hinzu. Man löst nun in HCl auf, spült in ein Becherglas und fällt daselbst nach Übersättigung mit Ammoniak und Ammonoxalat, worauf man das Kalkoxalat, wie vorher beschrieben, mit $\frac{n}{10}$ Kaliumpermanganatlösung bis zur eben bleibenden Rosafärbung titriert. Man kann den Kalk auch das zweite Mal als Sulfat statt als Oxalat fällen, die beiden alkoholhaltigen Filtrate vereinigen und den Alkohol im luftverdünnten Raume abdestillieren. Dabei nimmt die zurückbleibende Lösung dunkelbraune Farbe an, zu deren Entfernung man etwas Säuregemisch in der Kälte zufügt, worauf die Flüssigkeit zum Sieden erhitzt wird. Sobald die dunkle Färbung hellgelb geworden ist, kühlt man in Eiswasser ab, versetzt bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Ammoniak, dann mit reichlichen Mengen Salmiak und macht die Lösung durch Zusatz von HCl wieder deutlich sauer. Nun bringt man dieselbe quantitativ in einen Meßkolben, füllt mit Wasser

auf ein bestimmtes Volumen auf und teilt die Flüssigkeit in zwei gleiche Teile. In der einen Hälfte bestimmt man die Magnesia durch Fällen mit Natriumphosphat und Glühen als Magnesiapyrophosphat, in der anderen die Phosphorsäure durch Fällen mit Magnesiamixtur und Glühen ebenfalls als Magnesiapyrophosphat. Zur Bestimmung des Magnesiums gibt man zu einem Teile der Lösung einen Überschuß von Natriumphosphat, erhitzt zum Sieden und versetzt die heiße Lösung sofort mit einem Drittel ihres Volumens an 10 prozentigem Ammoniak. Nach 2—3 stündigem Stehen in der Kälte wird filtriert, mit Ammoniak ausgewaschen und getrocknet, dann nach Abtrennung des Niederschlages vom Filter zuerst dieses und dann die Hauptmasse des Niederschlages geglüht. Der andere Teil der Lösung wird mit einem Überschuß von Magnesiamixtur (55 g krist. $MgCl_2$, 105 g NH_4Cl, 2 ccm konz. HCl und 1000 g H_2O) bis zum beginnenden Sieden erhitzt, worauf man unter Umrühren 2½ prozentiges Ammoniak zufließen läßt, bis der Niederschlag anfängt sich kristallinisch abzuscheiden, worauf man den Ammoniakzufluß so reguliert, daß zirka 4 Tropfen pro Minute der Lösung zufließen. Der zuerst ausfallende Niederschlag ist kristallinisch; zeigt sich eine milchige Trübung, so muß dieselbe wiederum in HCl gelöst werden. Man gibt schließlich so viel Ammoniak zur siedenden Lösung, daß diese schwach danach riecht, läßt dann erkalten, fügt ein Fünftel des Flüssigkeitsvolumens an konzentriertem Ammoniak hinzu und kann schon nach 10 Minuten abfiltrieren. Dann trocknet, verascht, glüht und wägt man wie bei der Magnesiabestimmung. Ist die Menge des gewogenen $Mg_2P_2O_7 = p$, so berechnet sich die Menge PO_4 nach dem Ansatze $222 : 95 = p : x$.

IV. Einwirkungen auf das Wachstum der Keimlinge.

Von den Einwirkungen auf das Wachstum der Keimlinge sei zunächst der Einfluß des elektrischen Stromes hervorgehoben.

Man kann die Elektrizität auf drei verschiedene Arten auf die Pflanze direkt einwirken lassen, 1. indem man zwei Metallplatten in den Boden versenkt und dieselben mit einer Stromquelle verbindet: dann geht der Strom durch die Erde und wirkt auf die Pflanzen ein, welche sich im elektrischen Felde befinden; 2. indem man den Strom durch die Pflanze selbst gehen läßt. Eine Metallplatte, die mit dem einen Pol einer Stromquelle verbunden ist, wird in den Boden gesenkt und um den Stamm der Versuchspflanze ein Draht gewunden, der mit dem andern Pol der Stromquelle verbunden ist. Natürlich lassen sich solche Versuche nur an stärkeren Pflanzen, vornehmlich an Holzgewächsen, durchführen; 3. indem man die Pflanzen der direkten elektrischen Entladung aussetzt, also überhaupt nicht leitend mit der Stromquelle verbindet, sondern etwa ein Netz von Drähten über die Versuchsparzelle spannt und gegen den Erdboden isoliert; der eine Pol einer Elektrisiermaschine wird mit dem Drahtnetz, der andere Pol mit dem Erdboden verbunden. Die Pflanzen dienen bei dieser Versuchsanordnung gewissermaßen als Blitzableiter für die Luftelektrizität, und durch sie wird vermittels der dunkeln elektrischen Entladung ein Ausströmen der Elektrizität an den Spitzen, z. B. den Grannen des Getreides, erfolgen, was sich mitunter als St. Elmsfeuer äußert. Diese dritte Art der Beeinflussung ist gleichzeitig die

längst geübte und besonders durch L e m s t r ö m [1]) ausgebildet worden. Er spannte *über die Pflanzen ein Metalldrahtnetz, das isoliert und mit einer Reihe Messingspitzen versehen war;* dieses Netz wurde mit dem positiven Pol einer H o l t z schen Influenzmaschine in Verbindung gesetzt, während der negative Pol in die Erde mündete. Diese Maschine wurde mit der Hand oder durch mechanischen bzw. elektrischen Antrieb in Bewegung gesetzt. Die Samen wurden in nach der Südseite des Fensters offenen Pappendeckelgehäusen in Töpfen plaziert, in jeden Topf wurde unten ein Zinkstreifen gesteckt, der durch einen Metallfaden mit den Gasrohren des Raumes in Verbindung stand, oberhalb der Töpfe wurden die mit den Spitzen versehenen Netze aus Draht befestigt; in der einen Abteilung ging der Strom von der Luft zur Pflanze, in der andern umgekehrt, während eine dritte als stromlose Kontrolle diente. Bei Freilandversuchen verwendete L e m s t r ö m [1]) Drahtnetze, deren Drähte 2 mm Durchmesser hatten, an Porzellannäpfen als Isolatoren befestigt waren, während die Drähte in einem gegenseitigen Abstand von 100 cm standen und in je 50 cm Abstand eine Metallspitze trugen. Das Netz stand wieder in Verbindung mit dem positiven Pol einer vierscheibigen Influenzmaschine, der negative Pol derselben mit einer kleinen, in den Boden eingelassenen Zinkplatte. Die Maschine war untertags acht Stunden in Tätigkeit. Die Ernte des elektrisierten Feldes übertraf die der nicht elektrisierten (Gerste) um 35,5 %. Die Zahlen L e m s t r ö m s beweisen aber, daß die Resultate durchaus nicht für alle Pflanzen gleich günstig sind, und daß mitunter auch negative Werte resultieren. Im allgemeinen sind in Wachstum und Ernteergebnis gefördert und zwar qualitativ und quantitativ und in bezug auf die Raschheit der Entwicklung (Erdbereen gelangen in 24 statt in 56 Tagen zur Reife) die Zerealien, Wurzelgewächse wie Rübe, Kartoffel usw., manche Leguminosen, Erdbeeren, Laucharten, während in der Entwicklung unbeeinflußt gelassen oder gehemmt werden: Erbse, Karotte, Weißkohl, Kohlrübe, weiße Rübe, Tabak. Namentlich die Getreidearten zeigen in mittleren Böden unter dem Einfluß der Elektrizität einen Vorteil von 40 % gegenüber den unbehandelten und erstklassigen Böden, aber auch ein Überwiegen um 75 % ist keine Seltenheit. Die von L e m s t r ö m erhaltenen Werte sind folgende:

Pflanze	Versuchsparzelle		Kontrollparzelle		Prozentuale Ernteunterschiede
	Zahl der Pflanzen	Gewicht in kg	Zahl der Pflanzen	Erntegewicht in kg	
Weiße Rübe .	56	31,982	157	43,343	+ 107,2
Kartoffel . . .	268	21,281	990	44,694	+ 76,2
Rote Rübe . .	107	24,600	263	36,551	+ 65,29
Radieschen . .	26	2,295	57	3,166	+ 59,1
Pastinaca sat.	181	16,205	507	29,067	+ 54,45
Lauch	51	7,705	98	10,425	+ 42,11
Sellerie . . .	45	22,207	98	35,722	+ 36,90
Karotte . . .	695	27,201	1009	41,438	+ 5,12
Kohlrübe . .	8	2,869	16	5,382	+ 5,23
Weißkraut . .	13	14,025	15	28,684	+ 43,58
Weißkohl . .	15	14,72	23	21,19	+ 1,8
Weiße Rübe .	91	4,356	163	7,459	+ 2,58

[1]) S. L e m s t r ö m, Expériences sur l'influence d'électricité sur les végétaux, Helsingfors 1890. — S. L e m s t r ö m, Elektrokultur (übersetzt von O. P r i n g s h e i m). Berlin, W. Junk 1902.

Für *exakte Laboratoriumsversuche eignet sich etwa folgende Elektrokulturanlage* (Gaßner): die den hochgespannten Strom, mit dem die Pflanzen bestrahlt werden, erzeugende Influenzmaschine befindet sich in einem staubdichten Glaskasten und wird durch einen kleinen Elektromotor mit konstanter Geschwindigkeit getrieben. Der eine Pol der Influenzmaschine ist mit den Versuchspflanzen bzw. mit der Erde, in der sie wurzeln, der andere mit dem über denselben an Glasröhren isoliert aufgehängten Drahtnetz verbunden, das nach unten gerichtete Spitzen zeigt. Wie man sich durch Hineinhalten der Hand in die zwischen den Pflanzen und den Spitzen befindliche Luft überzeugen kann, findet ein ständiger Elektrizitätsaustausch zwischen Drahtspitzen und Pflanzen statt. Für Versuche im großen eignen sich Influenzmaschinen nicht, weil sie gegen äußere Einflüsse, namentlich Staub, sehr empfindlich sind und bald zu funktionieren aufhören. Für solche Zwecke bedient man sich des gewöhnlichen Wechselstroms; dieser wird durch Transformatoren zur gewünschten Spannung umgewandelt und der so erhaltene hochgespannte Wechselstrom mittels sog. Gleichrichter in hochgespannten Gleichstrom umgeformt. So kann man hochgespannte Gleichströme ununterbrochen erzeugen. Oder man kann die atmosphärische Elektrizität auswerten, indem man durch Ballons oder Drachen nach dem Vorgange von Höstermann-Dahlem und eines von den Ballons zur Erde gehenden Leitungsdrahtes hochgespannten Strom aus den oberen Luftschichten herunterholt.

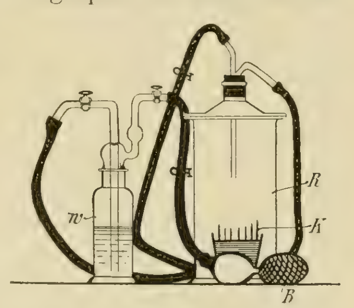


Fig. 19. Emanationsgefäß nach Molisch.
R = Radiumraum; K = Keimpflanze; B = Ballon zum Einführen der Emanation; w = Waschflasche.

Höchst wertvoll sind die Versuche, in welchen Molisch[1]) die Beeinflussung von Keimpflanzen durch Radiumemanation feststellte. Zur Einwirkung der *Emanation auf die Pflanzen wurde ein zylindrisches Glasgefäß* (Fig. 19) von 24 cm Höhe und 16,5 cm Breite, oben mit einem Glasdeckel geschlossen, verwendet; der Deckel war mit Vaselin luftdicht auf das Gefäß aufgesetzt und trug einen mit Kautschukpfropf versehenen Hals, der von einem Glasrohr durchsetzt war; dieses führte nach unten in den Kulturraum, gabelte sich oben und war so eingerichtet, daß die mit der Kautschukbirne eingepreßte Luft bei dem einen Gabelast in den Kulturraum hineinströmen und durch ein Loch in den andern Gabelast abstreichen konnte. Durch Kautschukschläuche stand der Kulturraum mit einer Waschflasche in Verbindung, die eine wässerige Lösung von $RaCl_2$, im ganzen 15,1 mg $RaCl_2$ = 11,5 mg Ra-Metall, enthielt. Durch etwa zwanzigmaliges Zusammendrücken des Ballons wird die gasförmige Emanation in den Kulturraum getrieben und dann die Hähne des Erzeugungsgefäßes geschlossen. Wenn alle 24 Stunden gequirlt und Emanation in den Versuchsraum geleitet wurde, so gelangten in den Versuchsraum ca. 16 % der Gleichgewichtsmenge, also 1,84 g Ra-Äquivalent = 1,84 Millicurie Emanation; wenn alle 48 Stunden

[1]) H. Molisch, Über den Einfluß der Radiumemanation auf die höhere Pflanze, Sitz.-Ber. d. k. Akad. Wien **121**, Abt. I (1912). — Über Heliotropismus im Radiumlichte, ebendas. **120** (1911).

Emanation durchgeleitet wurde, so traten 30 % der Gleichgewichtsmenge, d. i. 3,45 Millicurie, über. Außer dieser „starken" Emanation wurde noch eine mittelstarke mit 0,0009 Millicurie und eine (alle 24 Stunden in das Versuchsgefäß übergeleitete) „schwache" mit 0,000124 Millicurie verwendet. Eine Millicurie-Emanation in 1 l Luft entspricht etwa 2,4 Million Macheeinheiten. Die Emanation wurde alle 24 oder48 Stunden erneuert. Für die in dem Luftraum über der Lösung und in den Schlauchverbindungen zurückgebliebene Emanation sind etwa 7 % in Abzug zu bringen. Die Emanation übt, wenn in genügender Stärke vorhanden, einen hemmenden Einfluß auf die Entwicklung, die auch bei mittelstarker und schwacher Emanation soweit gehen kann, daß Wachstum und Entwicklung sistieren und die Pflanze abstirbt. Bei schwacher Emanation, namentlich wenn die Samen vor der Keimung der Bestrahlung ausgesetzt wurden, zeigte sich jedoch bisweilen eine merkliche Förderung der Entwicklung. Die tiefe Schädigung durch starke Emanation zeigt sich aber nicht unmittelbar nach der Exposition, sondern die Keimlinge erscheinen nicht besonders geschädigt, jedenfalls lebensfähig, dagegen ist die völlige oder fast völlige Sistierung jeder Entwicklung ein Zeichen, wie hochgradig die Pflanzen beeinflußt sind, und nach einiger Zeit erfolgt dann ein rasches, oft plötzliches Absterben. Dieser Stillstand des Wachstums wurde auch mit festen Radiumpräparaten erzielt und als „Radiumstarre" bezeichnet. Bei Phaseolus und Pisum kann man deutlich sehen, daß die Reservestoffe aus den Kotyledonen nicht mobilisiert werden, die Wirkung der Emanation setzt sich als physiologische Nachwirkung kürzere oder längere Zeit auch nach dem Aufhören der Bestrahlung fort. Keimlinge verschiedener Art, gleichgültig ob ihre Samen oder sie selbst der Emanation ausgesetzt waren, bleiben im Wachstum zurück und gehen nach einiger Zeit zugrunde. Aber auch, wenn nach Einwirkung der Emanation noch gutes Wachstum der Keimblätter eintritt, bleibt doch die Endknospe sitzen ebenso wie die Vegetationsspitze der Wurzel: beide entwickeln sich nur langsam weiter. Die Keimlinge lösen ferner ihre Nutation früher auf, strecken also die Spitze früher gerade als normale, ergrünen langsamer und bilden weniger Anthokyan. Manche, wie Secale Cereale und Avena sativa, scheiden an ihrer Spitze eine weiße kristallinische Masse aus. Eine Förderung durch schwache Emanation wurde bei den Keimlingen der Sommerlevkoje (Matthiola incana), Cucurbita Pepo und Helianthus annuus beobachtet, wenn die Emanation auf die Samen und nicht erst auf den Keimling gewirkt hatte. Aber auch die bereits entwickelten Organe der Pflanze werden durch Emanation geschädigt, die Blätter von Aucuba japonica mißfarbig, die von Impatiens Sultani glasig durchscheinend. Robinia Pseudacacia, Caragana arborescens usw. werfen in der Emanationsluft ihre Blätter viel früher, auch schon im Frühjahr und Sommer, ab, als in reiner Luft. Der Vegetationspunkt der Pflanzen wird nicht bloß in der Entwicklung zurückgehalten, sondern auch anderweitig beeinflußt. Die Sprosse von Sedum Sieboldii bilden normalerweise dreigliedrige Blattquirle; Sprosse, die in ganz jungen Entwicklungsstadien drei Tage starker Emanation ausgesetzt wurden, entwickeln von da an keine dreiblätterigen Wirtel, sondern nur dekussiert stehende Blattpaare. In allen genannten Fällen betrug die Menge des Emanationsgiftes, die schädigend oder tötend einwirkte, etwa 0,0000063 mg, also Quantitäten, welche bei keinem anderen Gifte physiologische Wirkungen ausüben.

Schwache galvanische Ströme ließ Thouvenin[1]) auf junge Flachskeimlinge einwirken. Die in Töpfe versetzten Keimlinge neigten sich ohne Strombehandlung sehr bald nach abwärts und welkten. Das äußerste Ende der Stengel bei zwei solchen Pflanzen (Fig. 20) wurde mittels einer Kupferklemme an den Faden eines Zeigerauxanometers befestigt und durch das Gewicht, das den Faden spannte, aufrecht gehalten. Der Faden des einen Auxanometers bestand in einem geschmeidigen Leitungsdraht, der mit seinem freien Ende an dem einen Pole einer elektrischen Batterie befestigt war. Eine blanke Kupferplatte wurde in Verbindung mit dem andern Pole der Batterie, an dem der Pflanze mit dem Leitungsdraht entgegengesetzten Ende in die Erde gestoßen und ermöglichte so, die Pflanze, sobald der Strom geschlossen war, dem Einflusse eines kontinuierlichen elektrischen Stromes auszusetzen. Wurde nach einigen Stunden der Faden am Ende des Stengels entfernt, so blieb die elektrisierte Pflanze künftig aufrecht, während das nichtelektrisierte Kontrollexemplar sich nach Abnahme des spannenden Fadens sofort wieder krümmte. Während unter normalen Verhältnissen das Aufrichten junger Keimpflanzen in die Vertikale mindestens 8 Tage in Anspruch nahm, brauchten die elektrisierten jungen Leinpflanzen dazu nur einige Stunden, auch wenn sie nicht im feuchten Raume gestanden hatten. Der Strom floß während der 17stündigen Versuchsdauer in der Richtung von der Wurzel zum Stamm; seine Stärke schwankte zwischen 0,000823—0,004221 Mikroampère. Mercurialis musa und Euphorbia Peplus zeigten schon nach drei Stunden das günstige Ergebnis; dagegen versagte Senecio vulg.; bei Mercurialis annua mußte der Strom vom Stamm gegen die Wurzel geleitet werden, um günstig zu wirken, während in der umgekehrten Richtung Versuchspflanzen und Kontrollexemplare keinen Unterschied zeigten. Durch Wägung der stromdurchflossenen Pflanzen oder Blätter zeigte sich aber, daß die elektrisierten Pflanzen oder Teile stets stärker transpiriert hatten, so daß durch die schwachen galvanischen Ströme die Endosmose des Wassers in höherem Maße gesteigert worden sein mußte als die gleichfalls gesteigerte Abgabe. In jedem Fall ist die Permeabilität durch den Strom erhöht, vielleicht übt derselbe auf die wasseraufnehmenden Zellen besonders einen Reiz aus, und da auch die Kohlensäureassimilation sich ge-

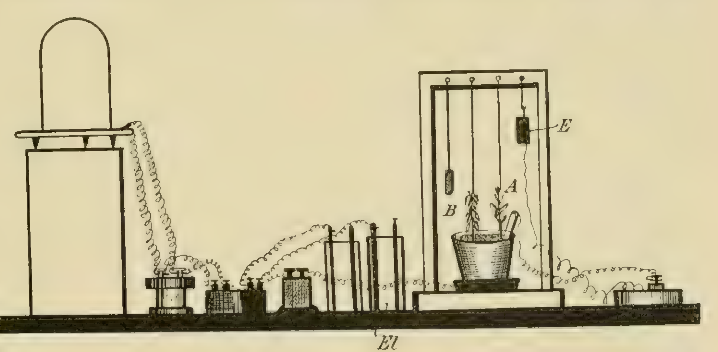


Fig. 20. Thouvenins Versuchsanstellung.
A, B = die beiden Flachskeimlinge; E, El = Elektroden.

[1]) M. Thouvenin, De l'influence des courants galvaniques faibles sur l'endosmose chez les végétaux. Revue gén. de bot. **19**, 317 (1907), 8, 433 (1896). G. Pollacci, Atti Istituto bot. dell' università di Pavia Vol. **11** (1905).

steigert zeigt, scheint der elektrische Strom alle Stoffwechselprozesse zu stimulieren, unter denen die auf Gedeihen und Trockengewichtszunahme hinzielenden besonders gefördert sind.

Stoklasa[1]) und seine Mitarbeiter sahen durch Einwirkung des Radiums ganz unglaubliche Förderung der Entwicklung bei Pflanzen in verschiedenen Stadien. Die Förderung von Radiumemanation in schwacher Aktivität ist zunächst eine indirekte infolge Förderung der stickstoffassimilierenden Bakterien, wodurch sich eine Stickstoffanreicherung des Bodens um 76 % ergeben kann. Gleichzeitig erweist sich die Denitrifikation als gehemmt. Schon die Samenkeimung ist ferner bei Triticum vulg., Hordeum dist., Vicia Faba usw. gefördert, wenn die Samen zum Anquellen in radioaktivem Wasser an Ort und Stelle des Quellenursprunges gebracht und 24 Stunden in 50 ccm Wasser von 15—100 M. E. pro 100 Samen belassen wurden. Im Keimapparate werden dann die keimenden Samen noch mit 5—10 ccm des Wassers täglich begossen. 50 M. E. hemmen bereits die Entwicklung, weniger stark radioaktive Wässer befördern die Keimungsenergie ungemein, künstlich aus $RaCl_2$ hergestelltes Wasser erweist sich weniger günstig als natürliches. Im günstigen Falle wurde die Keimungsenergie um 70—130 % erhöht, die Trockensubstanz vermehrt.

Trockensubstanz nach 46 Vegetationstagen in Wasserkultur:

	Pflanzen 18 Tage unter der Einwirkung von im ganzen 384 M. E.	Pflanzen in nicht radioaktivem Wasser gezogen
Pisum arvense	6,873 g	2,137 g
Vicia Faba	12,887 ,,	6,009 ,,
Lupinus angustifol.	3,793 ,,	1,845 ,,
Hordeum distichum	9,085 ,,	0,906 ,,

Während 70 M. E. die Ernte um 62—164 % erhöhten, übten 300—600 M. E., jeden vierten Tag erneuert, sowohl in Wasserkultur als in Sandkultur (5—7 kg Erde) einen schädlichen Einfluß. Die Blätter verfärbten sich rostbraun, das Chlorophyll wurde zersetzt, die Zellen plasmolysiert. Dagegen findet bei richtiger schwacher Dosierung der Radiumemanation rascheres und üppigeres Wachstum, schnellerer Blütenansatz, höherer Ertrag statt.

Es wurde schon früher darauf hingewiesen, daß, so unempfindlich sich ruhende Samen gegen schädigende Einflüsse der Außenwelt verhalten, der junge Keimling um so empfindlicher auf Reize reagiert. Nach dieser Richtung ist die Empfindlichkeit gegen Gase am auffallendsten, indem schon Spuren verschiedener Gase, aber selbst Exhalationen, wie sie vom Möbelanstrich oder von anderen Pflanzen herrühren, ferner gasförmige Verbrennungsprodukte von Flammen usw. das normale Wachstum, die Wachstumsrichtung, die Turgeszenz, die Art der Reaktion gegen Schwerkrafts- und Lichtreize, überhaupt den ganzen Verlauf des Stoffwechsels aufs nachhaltigste zu beeinflussen vermögen. Aus diesem Grunde, weil Spuren von Verunreinigungen in der Luft sich nur selten ausschließen lassen und selbst in guten Gewächshäusern vorhanden sind, empfiehlt es sich, die Pflanzenkulturen, will

[1]) J. Stoklasa, Vortrag, gehalten auf der 85. Vers. der Naturf. u. Ärzte. Wien 1913.

man durchaus normale Entwicklung erzielen, vor das Fenster zu stellen. Man braucht bloß im Gewächshaus gezogene Bohnen oder andere Pflanzen mit denen des Freilandes zu vergleichen, um schon in der äußeren Entwicklung die gewaltigen Unterschiede wahrzunehmen, welche natürlich im Ablaufe des Stoffwechsels, in der Erzeugung von Produkten qualitativ und quantitativ noch mehr ausgesprochen sind. Es ist vielleicht nicht zu weit gegangen, wenn man mehr oder weniger alle im Laboratorium erzogenen Pflanzen für abnormal und krank ansieht, und wenn man Schlüsse, welche von Laboratoriumsversuchen auf die normale, frei wachsende Pflanze gezogen werden, für nicht bindend erachtet. Ich wenigstens arbeite immer, wenn es sich um Probleme des normalen Stoffwechsels handelt, mit Freilandpflanzen. Das Gesagte gilt natürlich nicht nur vom Laboratorium im engeren Sinne des Wortes, sondern auch von Gewächshäusern, welche etwa in wissenschaftlichen Instituten inmitten der Dunstatmosphäre einer Großstadt angebracht sind, und das kümmerliche Gedeihen von Zimmerpflanzen ist außer auf die mangelhaften Lichtverhältnisse hauptsächlich auf die abnormale Luftzusammensetzung zurückzuführen. Übrigens macht sich auch betreffs der Luft die Wohltat der großen Verteilung geltend, so daß beispielsweise Pflanzen selbst im Dunstkreis der großstädtischen Atmosphäre vor dem Fenster besser gedeihen als innerhalb eines Gewächshausraumes. Ebenso wie die Pflanze ein ausgedehntes Substrat für die Ausbreitung ihrer unterirdischen Teile braucht, und wie sie um so besser gedeiht, ein je größerer Wurzelraum ihr zur Verfügung steht, so entwickelt sie sich um so normaler, je größer ihr Luftreservoir ist, wo sich etwaige schädigende Bestandteile besser verteilen können, die in derselben Menge auf einem kleinen Raume schädlich wirken. Schon daraus wird klar, wie wichtig ein öfteres Lüften von Glocken bei bedeckten Kulturen als Minimum der für normale Entwicklung aufzuwendenden Sorgfalt ist. Eine normale Atmosphärenzusammensetzung wird besonders dann wichtig, wenn man mit Wasserkulturen arbeitet, denn Erde oder Sand haben in hohem Maße die Eigenschaft, etwa schädliche gasförmige Beimengungen der Luft zu adsorbieren und die Luft gewissermaßen zu reinigen. Aus alledem geht aber die absolute Notwendigkeit hervor, zum Studium physiologischer Prozesse ein Stück Freiland, ein Feld oder einen Garten zur Verfügung zu haben; denn selbst dort, wo man im Experiment eine oder die andere abnormale Bedingung herstellen will, muß um so mehr für die Normalität der übrigen physiologischen Begleitumstände gesorgt sein; auch hier gilt ja das Gesetz des Minimums. Ist eine oder die andere Vegetationsbedingung, Lichtfarbe, Temperatur usw. nicht oder in nicht ausreichendem Maße gegeben, so können auch die übrigen normalen Verhältnisse nicht in entsprechendem Maße ausgenutzt werden, und ist noch dazu von anderer, nicht beabsichtigter Seite ein solches Minus gegeben, so treten Veränderungen ein, die nicht mehr vom Standpunkt des Versuches aus kontrolliert werden können. Handelt es sich nun gar um reizphysiologische Versuche, so üben die Verhältnisse der abnormalen Luftzusammensetzung derart auf die Pflanzen ein, daß ganz falsche Schlüsse aus den Versuchen abgeleitet werden können. Der Wert einer ganzen Reihe älterer Reizversuche ist aus diesem Grunde in Frage gestellt, und manche Erscheinungen, die man als Reizerfolg angesprochen hatte, mußten nun bei Wiederholung in reiner Luft als Wirkung der verunreinigten Atmo-

sphäre erkannt werden. Aber auch anderweitige ernährungsphysiologische Daten sollten von diesem Standpunkte aus überprüft werden, denn es zeigte sich, daß in verunreinigter Luft die Anthokyanbildung bei Keimlingen, die sich, besonders intensiv bei Gramineen, in den ersten Entwicklungsstadien zeigt, ausbleibt, daß die Turgeszenz kolossal erhöht wird, und daß sich eine Anhäufung von Monosacchariden und Aminosäuren, die sich durch beschleunigten Abbau größerer Molekularkomplexe oder gehinderten Aufbau oder beides ergibt. Alle diese Erscheinungen treten auch im Experiment bei Einwirkung von Narkoticis oder bei Sauerstoffentzug ein und stehen offenbar mit einem unter diesen abnormalen Verhältnissen bevorzugten intramolekularen Stoffabbau in Beziehung. Für die in unseren wissenschaftlichen Arbeitsräumen vorhandene, auf Keimlinge in der oben beschriebenen Weise wirkende Luft wurde der Name „Laboratoriumsluft“ geprägt; als wesent-



Fig. 21. Typischer Laboratoriumsluft-Habitus bei Erbse. Links Pflanzen aus Laboratoriumsluft, stark verdickt, zurückgeblieben, auffallende horizontale Nutation; rechts gerade schmächtige Keimlinge der reinen Luft. (O. Richter.)

lichst schädigender Bestandteil der Laboratoriumsluft dürfen wohl die Spuren Leuchtgas gelten, die in jedem Raume vorhanden sind, in welchem Gaslampen brennen, und im Leuchtgas wiederum sind als hauptsächlichste hier in Betracht kommende Bestandteile Aethylen und Azetylen anzusehen. Aber auch die gasförmigen Stoffwechselprodukte von Menschen und Pflanzen selbst, also Ausdünstungen aller Art, Spuren von Schwefelwasserstoff, vornehmlich aber die Verbrennungs- und Atmungskohlensäure in schlecht ventilierten Räumen haben wichtigen Anteil an den Schädigungen durch „Laboratoriumsluft“ (Fig. 21—30). Von den Forschern, welchen wir nach dieser Richtung wichtige Aufschlüsse verdanken, sei D. Neljubow[1]), H. Molisch[1]) und in erster Linie O. Richter[1])

[1]) D. Neljubow, Über die horizontale Nutation der Stengel von Pisum sat. und einiger anderer Pflanzen. Beih. z. bot. Zentralbl. **10**, H. 3 (1901); Ber. d. d. bot. Ges. **29**, 97 (1911). H. Molisch, Über Heliotropismus im Bakterien-

genannt. Neljubow machte im Jahre 1901 darauf aufmerksam, daß für eine abnorme, von Wiesner an Keimlingen entdeckte Krümmungsbewegung die „in den Versuchsräumen unserer Laboratorien in Anbetracht der derzeitigen Ausrüstung mit Gasleitungen, Reagenzienfläschchen usw. unvermeidlichen Spuren gasförmiger Verunreinigungen der Luft" verantwortlich zu machen seien. Es ist dies die sogenannte „horizontale Nutation", die Erscheinung, daß Keimlinge beim Austreiben im Dunkeln vielfach nicht negativ geotropisch nach aufwärts wachsen, sondern mit dem Stengel mehr oder weniger auffallende Krümmungen horizontal oder fast horizontal über der Erdschicht des Blumentopfes ausführen. Gleichalte Pflanzen der Erbse z. B. im Laboratorium und in der Orangerie gezogen, zeigten in Neljubows Versuchen ganz auffallende Unterschiede. Während diese mächtig und schlank in die Höhe schossen, krochen jene gedrückt auf der Erde des Blumentopfes nach den verschiedensten Richtungen hin und vermochten sich kaum über den Rand zu erheben. Ganz ähnliche Resultate erzielte er, wenn er Pflanzen einmal unter mit Straßenluft gefüllten, das andere Mal in mit Laboratoriumsluft beschickten Glocken unter denselben Bedingungen nebeneinander wachsen ließ. Wurde aber die Laboratoriumsluft gereinigt und die Pflanzen dann in diese gereinigte Luft gebracht, so wuchsen sie völlig normal. In der verunreinigten Luft bleiben überdies die Keimlinge im Längenwachstum zurück, verdicken aber dabei ihre Stengel auffallend. Neljubow stellte zahlreiche Versuche an, um die schädlichen Bestandteile der Luft einzeln zu analysieren: er schaltete das Schwefeldioxyd aus, indem er die Luft durch KOH und eine dicke Schicht von MnO_2 schickte, er leitete die Luft durch rotglühende Platinröhren und darauf noch durch KOH. Ein Resultat ergab sich erst, als die Luft über glühendes CuO geleitet worden war. In drei festverschlossenen Glasglocken wurden in mit Sand gefüllten Töpfen Erbsensamen zum Keimen gebracht, wobei



Fig. 22. Cucurbita Pepo. Links Pflanzen, die unter Einwirkung von je 10 ccm Leuchtgas täglich durch 8—10 Tage gestanden hatten (10 l-Glocke); rechts Pflanzen der reinen Luft (O. Richter.)

lichte. Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss. **111** (1902). O. Richter, Über den Einfluß verunreinigter Luft auf Heliotropismus und Geotropismus. Ebendas. **115** (1906); Medizin. Klinik **1905**, Nr. 19, 20, Naturw. Umschau **1913**, Nr. 13 usw.



Fig. 23. Erhöhung des Turgors bis zum Zersprengen des Gewebes bei Bohnen. Eine einprozentige Emulsion von Benzol und Wasser wurde auf ein Filtrierpapier, Größe 7×4 cm, getropft und dieses Papier unter die Glocke gebracht. Versuchsdauer 8 Tage. (O. Richter.)

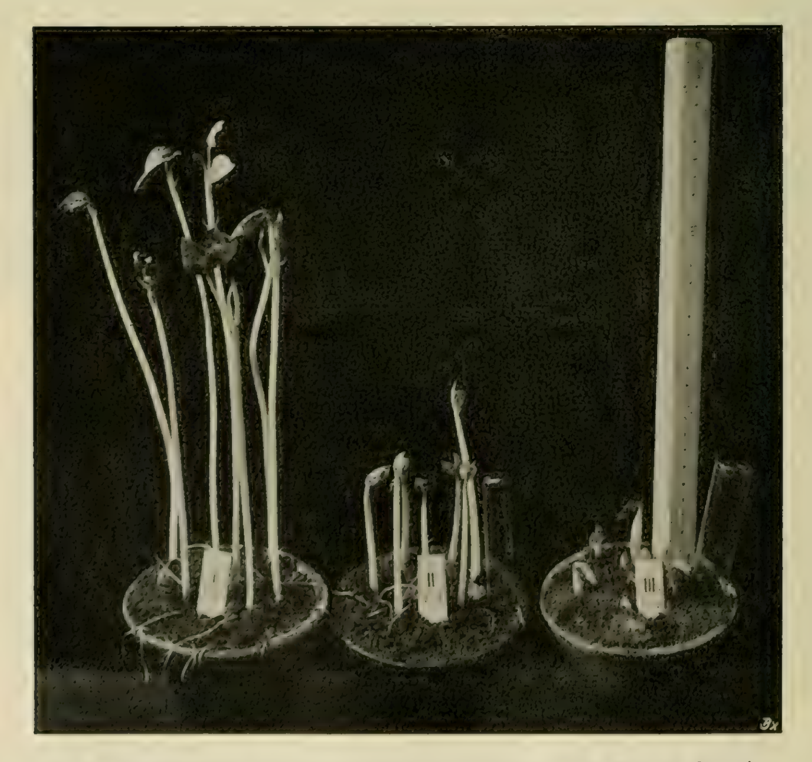


Fig. 24. Zurückbleiben im Längenwachstum bei Bohnen, links Pflanzen der reinen Luft, II Zusatz von 10 ccm Leuchtgas zu reiner Luft unter einer 10 l fassenden Glocke, III Zusatz von 25 ccm Leuchtgas. (O. Richter.)

durch die Glasglocke täglich drei Stunden lang ein Luftstrom geleitet wurde, und zwar durch die erste Laboratoriumsluft, durch die zweite Luft, die vorher durch KOH, $Ba(OH)_2$, $CaCl_2$, rotglühendes CuO, wieder $Ba(OH)_2$ und schließlich H_2O geleitet worden war, durch die dritte ebenso gereinigte, aber nicht geglühte Luft. In 1 und 3 wuchsen die Triebe kaum merklich von der Horizontalen abweichend, in 2 dagegen fast völlig vertikal. In wie kleinen Mengen die Bestandteile des Leuchtgases schon wirken, beweist die Tatsache, daß ein Zusatz von $^1/_{16\,000\,000}$ Äthylen, d. i. auf 8 Liter Luft 0,5 ccm einer 0,1 prozentigen Mischung von Äthylen mit Luft oder 0,005 ccm Äthylen, schon horizontale Nutation hervorruft und ein Zusatz von $^1/_{160\,000}$, d. i. auf 8 Liter $\frac{1}{2}$ ccm einer 10 prozentigen Mischung von Äthylen mit Luft oder 0,05 ccm Äthylen, schon einige schwächere Keimlinge tötet. Die in reiner Luft vertikal gewachsenen Triebe bilden bei Einwirkung von Leuchtgas oder Laboratoriumsluft an ihrer Spitze fast unter rechtem Winkel eine Krümmung, wobei der neugebildete horizontale Teil verdeckt wird. Nach O. Richter zeigt übrigens schon Holzkohle, durch welche die Luft durchgesaugt wurde, hinreichend reinigenden Einfluß. Verkürzung und Verdickung in Leuchtgasatmosphäre ist proportional der Menge des Leuchtgases, das auf die Pflanzen einwirkt, respektive der Länge der Zeit, welche hindurch die Pflanzen der Laboratoriumsluft ausgesetzt waren; bringt man die Pflanzen abwechselnd in reine und in Laboratoriumsluft, so kann man die für Laboratoriumsluft charakteristischen Erscheinungen, Verdickung, Verkürzung, Horizontalkrümmung, mit den normalen Wachstumserscheinungen an derselben Pflanze abwechseln sehen. Molisch hatte besonders Gelegenheit, den Einfluß der Verunreinigungen der Laboratoriumsluft auf Geotropismus und Heliotropismus zu studieren. Er sagt darüber: „Die Spuren von Leuchtgas und anderen Verunreinigungen flüchtiger Natur, die sich in der Luft des Laboratoriums vorfinden, genügen, um die Reizbarkeit des Plasmas so zu beeinflussen, daß die Stengel der genannten Keimlinge keinen

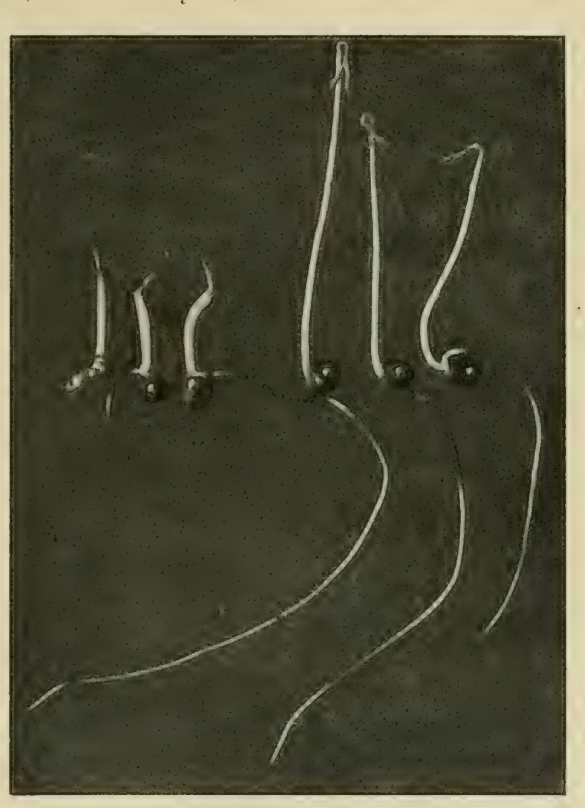


Fig. 25. Einfluß von harzigen Sägespänen auf Wicken. Links verdickte, zurückgebliebene Keimlinge aus Koniferenspänen, rechts solche aus Buchenholzspänen. (O. Richter.)

negativen Geotropismus mehr zeigen. Mit dem Ausschalten des negativen Geotropismus stellt sich gleichzeitig eine so hochgradige heliotropische Empfindlichkeit ein, daß es unter diesen Umständen gelingt, gewisse Pflanzen noch zu heliotropischen Bewegungen zu veranlassen, die unter normalen Verhältnissen dazu nicht mehr befähigt sind." In den Versuchen Richters hat sich gezeigt, daß Terpene und andere flüchtige Stoffe auf die verschiedensten Keimlinge ebenso wirken wie die Laboratoriumsluft, und zwar noch in unglaublicher Verdünnung. Selbst Stoffe, die aus Holzklötzchen entströmen, mit denen der Glockenrand gestützt war, um die Laboratoriumsluft einzulassen, bewirken die genannten Erscheinungen. Richter verwendet daher, um den Glockenrand über die absperrende Wasserschicht zu heben, dicke Glasröhren. Da es sich als wahrscheinlich erwies, daß jene Spur gasförmiger Verunreinigungen, die mit dem Abschließen eines Quantums Luft im Laboratorium durch Wasser in ihm vorhanden war, störend wirken konnte, wurde das nötige Luftquantum mit Wasserabschluß aus dem Glashause geholt. Nach jedem Versuche werden die Glocken unter Wasserabschluß ins Glashaus getragen, dort oder vor dem Fenster die Glocken abgehoben, gründlich ausgeschwenkt und wieder daraufgesetzt. Alle Vorbereitungen für die Versuche sind in der reineren Luft des Glashauses zu treffen, ins Laboratorium dürfen die Pflanzen überhaupt nur von Glocken unter Wasserabschluß bedeckt gebracht werden. Der Anstrich des Mobiliars, die flüchtigen Terpene, welche aus den Harzen auch nicht angestrichener Hölzer ausströmen, können, besonders in einem engen Raume, in welchem etwa noch zahlreiche Gasflammen brennen und die Lüftung eine mangelhafte ist, Erscheinungen hervorrufen, welche eine Wirkung der Laboratoriumsluft sind, aber vielfach auf andere, mit dem speziellen Versuch im Zusammenhang stehende Ursachen zurückgeführt worden sind. Ich verweise diesbezüglich auf die zahlreichen Hinweise in Richters beachtenswerten Ausführungen. Exakte Versuche können eben nur im Glashause, im Freien oder doch wenigstens in großen, gut durchlüfteten, elektrisches Licht usw. führenden Räumen angestellt werden. Aber Prianischnikow

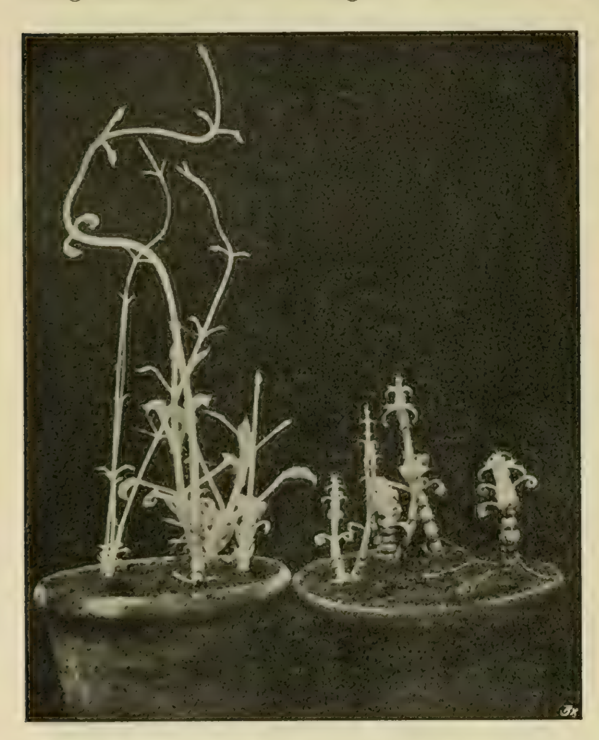


Fig. 26. Stachys bulbifera, unter Gaben von 25 ccm Leuchtgas knollig angeschwollen. Dunkelkultur links normale, rechts Versuchspflanze.

und später Grafe und Richter haben gezeigt, daß Pflanzen aus Laboratoriumsluft eine ganz andere Zusammensetzung zeigen als solche aus reiner Luft. Das verschiedene Verhalten von Pflanzen in reiner und unreiner Luft vor einer Lichtquelle weist eine gewisse Ähnlichkeit mit den Erscheinungen auf, die durch typische Narkotika, wie Äther oder Chloroform, hervorgerufen werden, nur daß Leuchtgas noch in viel geringeren Quantitäten wirkt als diese. Natürlich verhalten sich verschiedene Pflanzen gegen Laboratoriumsluft verschieden empfindlich, und Richter hat dieses Verhalten bei verschiedenen Wickenarten geprüft. Als sehr empfindlich erwies sich Vicia calcarata, sativa, tricolor, globosa, als empfindlich Vicia Gerardi, atropurpurea, fulgens, cracca, onobrychioides, als minder empfindlich Vicia villosa, Narbonnensis, Faba, während Vicia pseudocracca als für Laboratoriumsluft-einflüsse unempfindlich zu bezeichnen ist. Es zeigte sich aber auch, daß die verschiedenen Pflanzenorgane ungleich empfindlich sind, in der Regel die Stengel stärker als die Blätter. Ferner daß die Pflanzen im Wachstum fast doppelt so sehr gehemmt sind, wenn sie, in reiner Luft ausgekeimt, aus dieser in die verunreinigte übertragen werden, als wenn sie gleich in unreiner ausgekeimt sind, man kann somit von einer Gewöhnung an die Laboratoriumsluft sprechen. Will man die denkbar deutlichsten Unterschiede zwischen Reinluft- und Laboratoriumsluftpflanzen sehen, so müssen die Pflanzen im Glashaus auskeimen. Keimen sie aber in Laboratoriumsluft aus, so findet eine Gewöhnung der Pflanzen an diese Luft statt, so daß die Unterschiede nicht so deutliche sind. Von anderen Versuchspflanzen als Wicke unterliegen Erbse, Linse, Phaseolus multiflorus, Helianthus annuus, Cucurbita Pepo, Callisia repens, Lathyrus odoratus, Polygonum Sieboldii, Zea Mays der hemmenden Einwirkung der Laboratoriumsluft, von denen

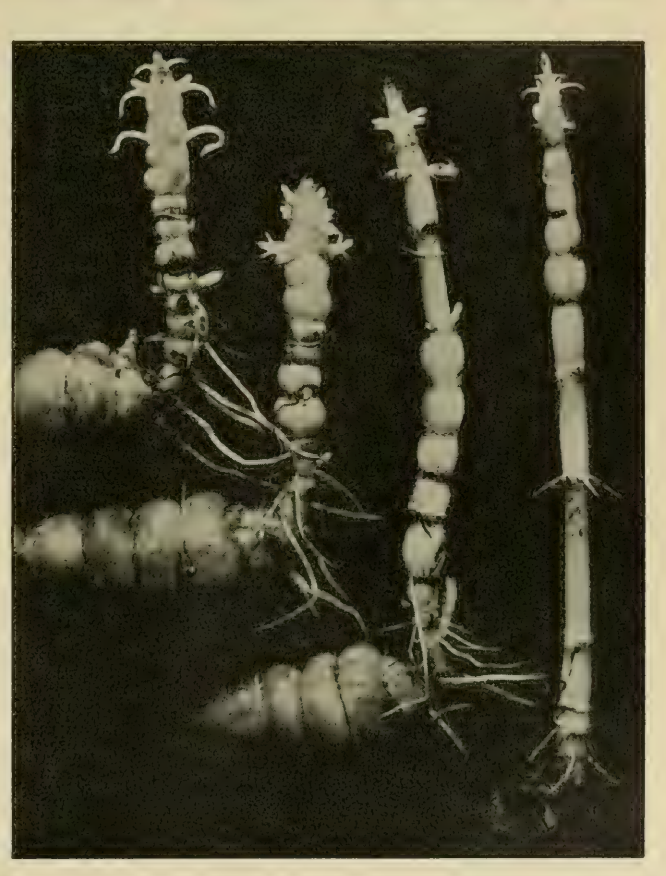


Fig. 27. Stachys-Pflanzen aus Laboratoriumsluft, knollig, verdickt, zurückgeblieben. Dunkelkultur. (O. Richter.)

sich Erbse, Kartoffel und Bohne als die empfindlichsten erwiesen. Die Turgordehnungen beim gesteigerten Dickenwachstum, wahrscheinlich hervorgerufen durch die ungewöhnliche Anhäufung löslicher Kohlenhydrate und Aminosäuren sind mitunter so groß, daß sie ein Platzen



Fig. 28. Stachyspflanzen aus einem Lichtversuch, links aus Leuchtgasatmosphäre, rechts aus reiner Luft. (O. Richter.)

und Zerreißen der Gewebe, ein Auseinanderfallen der Zellen bei der Kartoffel, eine ,,Mazeration bei lebendigem Leibe" hervorrufen können. Die Tatsache, daß ,,schlechte Luft" die Irritationen im pflanzlichen Stoffwechsel und damit weitgehende morphologische Änderungen hervor-

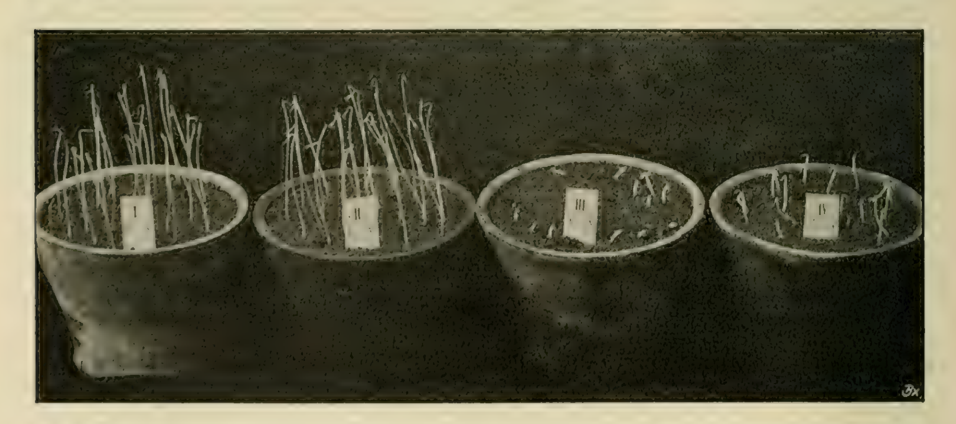


Fig. 29. Vicia sativa. I die Keimlinge waren unter abgeschlossener, mit reiner Luft gefüllten Glocke gezogen; II in reiner Luft mit Kalilaugeabschluß zur Absorption der Atmungskohlensäure gezogen; III. Keimlinge unter einer Glocke, die seitlich etwas gehoben war, um die Luft des Versuchsraumes einzulassen; IV. Versuchsanordnung wie III, Glocke mit feuchtem Filterpapier zur Verhinderung der Transpiration ausgekleidet. (O. Richter.)

ruft, hat dazu geführt, daß man vornehmlich das Augenmerk auf Stoffe gerichtet hat, welche auch unser Geruchsorgan affizieren, um so mehr, als Richter tatsächlich eine ,,Laboratoriumsluft"beeinflussung durch die Düfte von Blüten feststellte, welche mit den Keimlingen unter eine

Glocke gesperrt waren. In diesem Falle aber scheint es mir doch, obwohl eine Beeinflussung der Keimlinge durch angehäufte Kohlensäure von Richter ausdrücklich in Abrede gestellt wird, als ob die in diesem Falle sicherlich in toxischen Mengen entwickelte Atmungskohlensäure das Resultat stark beeinflußt hätte, um so mehr als ja immer nachdrücklich auf die schädigende Wirkung durch die Verbrennungsprodukte der im Versuchsraume brennenden Flammen, also Kohlensäure, oder unverbrannte Kohlenwasserstoffe hingewiesen wird. Meiner Ansicht nach wird eben jeder gasförmige Stoff, der an sich oder durch seine Menge als Pflanzengift wirkt, Laboratoriumslufterscheinungen hervorrufen, ganz gleichgültig, ob er einen „Geruch" hat oder nicht, ob uns dieser Geruch unangenehm ist oder nicht. Faktisch werden ja die meisten Gase oder Dämpfe, welche unangenehm riechen, auch Gifte sein, aber das ist nur ein zufälliges, nicht immer zutreffendes Phänomen, denn Äthylen und völlig gereinigtes Azetylen, gerade jene Stoffe, an denen zuerst die Erscheinungen der Laboratoriumsluft aufgefunden wurde und die schon in fabelhaft geringen Spuren wirken, sind völlig geruchlos. Die Gase, welche Laboratoriumslufterscheinungen hervorrufen, wirken, wie alle Gifte, im allgemeinen und wie Narkotika im besonderen, in kleinen, je nach der Quantität und Qualität verschiedenen Mengen zunächst reizend und dann hemmend auf die Stoffwechselvorgänge, sie setzen in giftigen, aber noch nicht zum Tode führenden Mengen die Plasmaregulation herab und befördern die enzymatischen Abbauvorgänge, welche in der Anhäufung von Dissimilationsprodukten, die nicht schnell genug verarbeitet werden können, gipfeln. Alle anderen Erscheinungen, wie Turgeszenzsteigerung und die morphologischen Änderungen, dürften sekundäre Folgen dieser physiologisch-chemischen Primärwirkungen sein. Das enzymatische und plasmatische Gleichgewicht ist jedenfalls gestört und die Stoffwechselvorgänge in abnormale Bahnen geleitet. Die umgebende Atmosphäre hat sich als hochwichtig gezeigt, um die Lebenserscheinungen der Pflanze normal vor sich gehen zu lassen, ebenso wichtig wie die angemessene Form des Substrates, in welchem die Pflanze wurzelt. Die jungen, sich entwickelnden ober-

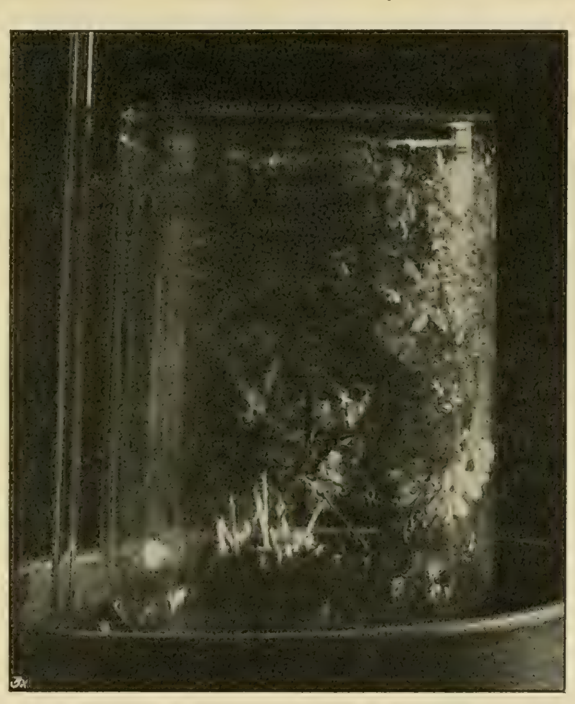


Fig. 30. Erbsenkeimlinge mit Blüten von Robinia Pseudacacia eingeschlossen. Das ätherische Öl der Blüten bringt bei den Keimlingen den typischen „Laboratoriumsluft"-Habitus hervor, Hemmung des Längenwachstums und Verdickung des Stengels. (O. Richter.)

irdischen Teile sind, was man früher allzusehr vernachlässigt hat, ebenso empfindlich gegen Schädigung von außen wie die Wurzel, und somit ist das, was uns die Versuche über Laboratoriumsluft lehren, zu einem der beachtenswertesten Kapitel der Pflanzenphysiologie und im besonderen der wissenschaftlichen Pflanzenzüchtung geworden.

V. Kohlensäureassimilation.

Die Tatsache, daß die grüne Pflanze den Kohlenstoff zum Aufbau ihres Körpers in erster Linie der Luftkohlensäure entnimmt, gehört zu den frühesten Erkenntnissen der Pflanzenphysiologie, immerhin hat sich die Liebigsche Humustheorie, nach welcher der für die Pflanzen notwendige Kohlenstoff aus dem Humus des Substrates stammt, verhältnismäßig lange gehalten, und heute müssen wir zugeben, daß, wenn auch natürlich die Assimilation der Luftkohlensäure feststeht, die höhere Pflanze doch vielleicht in der Lage ist, auch dem Erdreich Kohlenstoff in irgendeiner Form zum Aufbau ihres Körpers zu entziehen. Daß die Luftkohlensäure die allgemeinste Kohlenstoffquelle für die grüne Pflanze darstellt, ersehen wir schon aus den Erfolgen der Wasserkultur, in der wir der Nährlösung keine kohlensauren Salze oder organische Substanzen zuzufügen brauchen. Trotzdem beobachten wir mit der Zeit eine das Vielfache des Samengewichtes betragende Zunahme der Pflanzentrockensubstanz. Für die Keimlinge ist, solange sie noch kein Chlorophyll gebildet haben, welches allein die Verwertung der Lichtenergie zur Assimilation der Kohlensäure ermöglicht, der Reservevorrat der Kotyledonen oder sonstigen Reservespeicher die Quelle, aus der sie den Kohlenstoff, direkt in organischer Form, entnehmen, und auch nachher wird diese Kohlenstoff- und Stickstoffquelle neben der Assimilation ausgewertet. Überhaupt erscheint das Reservemagazin, welches ja alle zum Aufbau des Pflanzenkörpers notwendigen Stoffe, Kohlenstoff und Stickstoff in organischer Bindung, aber auch die Mineralstoffe, Phosphor, Eisen usw. teils in ionisierter, teils in organischer Form, enthält, als notwendige Unterstützung der autotrophen Arbeit zu fungieren, bis die Konstitution des Keimlings hinlänglich gefestigt ist, daß ihm die eigene Arbeit zur Beschaffung von Bau- und Energiematerial genügt. Deswegen muß, genau so wie es eine Korrelation der einzelnen Teile des Pflanzenkörpers gibt, auch eine solche zwischen den einzelnen Nährstoffquellen, also hier zwischen der aus den Reservestoffbehältern strömenden und der assimilierten Nahrung, herrschen. Wir ersahen das außer durch andere Erscheinungen, welche später behandelt werden sollen, auch daraus, daß ein Aufbrauch der kotyledonaren Stoffe nicht oder nur sehr unvollkommen stattfindet, wenn man die Entwicklung des Keimlings durch Gifte oder Narkotika oder durch Mangel an wichtigen Mineralstoffen hemmt; obzwar die objektive Möglichkeit einer Nahrungsbeschaffung durch Kohlensäureassimilation gegeben wäre, bleibt der Keimling doch unentwickelt, während die Reservestoffbehälter prall gefüllt sind. Die Zunahme an Trockensubstanz durch Assimilation allein kann in den ersten Lebensstadien schon deshalb nicht genügen, weil während der Entwicklung der Energiebedarf so groß ist, daß ein großer Teil der erworbenen Nahrung der Verbrennung anheimfällt. Einen Trockengewichtsansatz kann man deshalb z. B. bei Phaseolus

vulg. trotz günstigster Ernährungsbedingungen erst nach dem zwanzigsten Kulturtage beobachten. Die Verfolgung der Kohlensäureassimilation gründet sich auf die Beobachtung des dabei stattfindenden Gaswechsels, bei welchem Kohlensäure aufgenommen, Sauerstoff abgegeben wird, und auf die Bestimmung der entstandenen Assimilationsprodukte, in erster Linie Stärke und Zucker.

Zur Demonstration der Sauerstoffabgabe kann man Pyrogallol oder Phosphor verwenden. Die Lösung des Pyrogallols wird bereitet, indem man 5 g Pyrogallol, gelöst in 15 ccm Wasser mit 120 g Ätzkali, gelöst in 80 ccm Wasser, miteinander mischt. Die Absorptionen dürfen nicht bei niedrigeren Temperaturen als 15 ^{0} C vorgenommen werden, da das Pyrogallol bei einer niedrigeren Temperatur weit weniger wirksam ist. Da die alkalische Pyrogallollösung sich an der Luft fast momentan durch den Sauerstoff der Luft bräunt, ist es zweckmäßig, sie in dem nachfolgenden Apparat zu bereiten, aufzubewahren und von da in die mit einem indifferenten Gase gefüllten Absorptionsgefäße fallweise abzulassen. *Der Apparat*[1]) *besteht* (Fig. 31) *aus der Reservoirkugel A*, welche nach rechts in ein u-förmig gebogenes Rohr übergeht; dieses hat bei *f* einen kleinen Rohrstutzen und endet in das kapillare Dreiwegstück *g*. An die Reservoirkugel schließt sich auf der andern Seite das gebogene Rohr *h* an, welches bei *i* einen Glashahn besitzt. Bei *K* kann ein kleiner Trichter mittels eines Gummischlauches aufgesteckt werden. An dem Rohrstutzen *f* findet sich ein dünner Gummischlauch, an dessen anderem Ende ein Trichter eingesteckt ist, die Enden der Dreiwegkapillaren *g* sind mit Gummistücken und Quetschhähnen verschließbar. Der Apparat wird zum Gebrauche zunächst ganz mit Quecksilber gefüllt, dann steckt man bei *m* einen Trichter oder ein Rohr an, schließt die Quetschhähne *n* und den bei *g*, öffnet den Hahn *i* und gießt nun die wässerige Lösung des zu verwendenden Pyrogallols in den Trichter. Bringt man hierauf das Ende *K* der Röhre *h* mittels eines Gummischlauches mit einem Filtrierkolben in Verbindung, den man mittels einer Wasserluftpumpe luftleer macht, so fließt das Quecksilber durch *h* in den Filtrierkolben und saugt die eingegossene Lösung des Pyrogallols nach; durch Schließen des Glashahnes *i* kann man sofort das Einfließen abstellen. Ist das Pyrogallol vollkommen eingesaugt, so gibt man die Lösung des Ätzkalis in den Trichter und saugt diese in ganz gleicher Weise ein. Schließlich werden beide Lösungen im Apparate gut durchgeschüttelt. Will man nun das Absorptionsgefäß mit dem Reagens füllen, so verbindet man das eine Rohr desselben durch das Gummistück bei *g* mit dem Dreiwegrohr *g*. Das

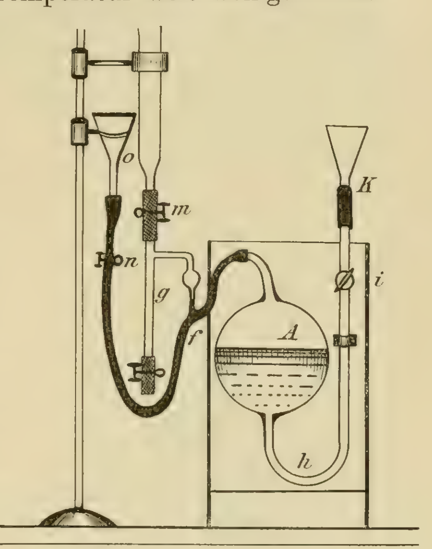


Fig. 31. Hempels Apparat zum Aufbewahren von Pyrogallol.

[1]) W. Hempel, Gasanalytische Methoden, 3. Aufl., p. 135, Braunschweig 1900.

Absorptionsgefäß ist mit Quecksilber gefüllt, das durch eine kleine Handpumpe bis *g* getrieben wird; man schließt *m*, *n*, *g* und öffnet *i*, nachdem man in den Trichter *K* etwas Quecksilber gegeben hat. Senkt man hierauf den Trichter *o*, so kann man durch Öffnen des Quetschhahnes *n* den linken Teil des Absorptionsröhrchens leicht mit dem Reagens füllen, da das Quecksilber das Reagens aus der Kugel in das Absorptionsgefäß treibt. Das verschlossene, mit der fast farblosen Pyrogallollösung gefüllte Absorptionsgefäß wird nun durch einen Kautschukschlauch mit dem kürzeren Glasrohr der Vegetationsglocke verbunden, deren Tubus mit einem doppelt durchbohrten Stöpsel für die Aufnahme des längeren, bis zum Boden der Glocke reichenden und des kürzeren, unter dem Stöpsel endigenden versehen ist. Durch die Glocke wird unmittelbar vor der Bestimmung Wasserstoff durchgeleitet und dann das Absorptionsgefäß damit verbunden, worauf ein langsamer Wasserstoffstrom wieder durch die Glocke geschickt wird. Eine Bräunung bis Schwarzfärbung des Reagens zeigt Sauerstoff an. Zur *Absorption*

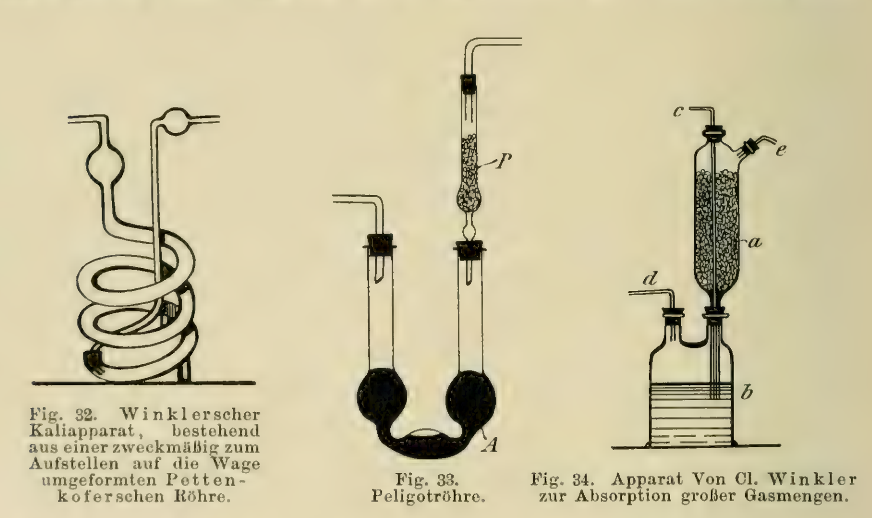


Fig. 32. Winklerscher Kaliapparat, bestehend aus einer zweckmäßig zum Aufstellen auf die Wage umgeformten Pettenkoferschen Röhre.

Fig. 33. Peligotröhre.

Fig. 34. Apparat von Cl. Winkler zur Absorption großer Gasmengen.

des Gases wendet man die gewöhnlichen, auch für Verbrennungsanalysen dienenden modifizierten Liebigschen *Kaliapparate* an. Sehr zweckmäßig sind auch die durch Cl. Winkler in eine handlichere Form gebrachten Pettenkoferschen Absorptionsröhren, welche man ebenso auf die Wage stellen kann wie die Kaliapparate (Fig. 32). Zum vorherigen Reinigen der durchzuleitenden Luft von den unerwünschten Bestandteilen, ferner auch von Staub u. dgl. sei es bei der Analyse eines Gases, sei es für die Befreiung der Luft von Staub und anderen schädlichen Bestandteilen dient am einfachsten eine lange senkrechte Röhre, die mit Glassplittern gefüllt und mit einer Peligotröhre (Fig. 33) verbunden wird. Die Glassplitter können mit dem absorbierenden Medium getränkt sein, während die Peligotröhre gewöhnlich mit dem festen Adsorbens (Ätzkalistücke, Chlorkalzium u. dgl.) beschickt wird. Zur *Absorption größerer Gasmengen*, wenn es sich also darum handelt, stundenlang durch ein Kulturgefäß ein Gas durchzuleiten, eignet sich am besten der auf Fig. 34 abgebildete Apparat, in welchem dem Adsorbens durch kleine Stücke des sehr porösen Bimssteins eine große Oberfläche ge-

geben ist. Der Zylinder *a* endet oben in zwei Tubulaturen, unten in ein Rohr, welches letztere luftdicht in den Hals einer kleinen Wulfschen Flasche *b* eingeschliffen ist. Letztere soll die Absorptionsflüssigkeit aufnehmen, während jene mit Bimssteinstücken gefüllt wird. Durch Einblasen von Luft in die Flasche durch *d* bringt man die Flüssigkeit zum Aufsteigen, wobei sich der Bimsstein mit derselben vollsaugt. Öffnet man hierauf *d* wieder, so fließt der Flüssigkeitsüberschuß nach *b* zurück, und das Gefäß ist zur Absorption vorbereitet. Man läßt das Gasgemenge durch das Rohr *c* eintreten, welches in die Verjüngung von *a* hinein und bis unter den Flüssigkeitsspiegel reicht; indem das Gas in Blasen in der Absorptionsflüssigkeit aufsteigt, wird ihm der größte Teil seiner absorbierbaren Bestandteile entzogen, der Rest aber wird von der durchfeuchteten Bimssteinschicht zurückgehalten, welche er durchziehen muß, bevor es bei *e* zum Austritt gelangt, und welche eine sehr große Berührungsfläche darbietet. Um mit *sehr großen Luftquanten* (600 Liter) zu arbeiten, verwendet man den Apparat (Fig. 35) von Reiset[1]). *J* ist ein u-förmiges, mit durch konzentrierte H_2SO_4 feucht erhaltenem Bimsstein gefülltes Rohr, welches zur Sammlung der den Durchgang der Luft erschwerenden verdünnten Schwefelsäure am unteren Ende eine Kugel angeschmolzen erhält. Diese Röhre *J* funktioniert als Trockenröhre, sie hält die gesamte Feuchtigkeit der Luft zurück und gibt durch ihre Gewichtszunahme den jedesmaligen Wassergehalt derselben an. Das getrocknete Gas passiert nun durch die im Tubus der Waschflasche *F* befestigte Röhre *t* und gelangt so in das eigentliche Absorptionsgefäß. Dieses bildet den Hauptteil des Apparates: drei schwach konische Platinkapseln *C*, C′ und C″ aus dünnem Blech sind durch Reibung im Innern des Glaszylinders *T* befestigt; jede Kapsel hat einen Durchmesser von 4 cm und ist von 120 etwa 0,5 mm weiten Löchern durchbohrt. *T* hat eine Länge von 50 cm. Mit Hilfe eines dicht schließenden dicken Kautschukringes läßt sich die Verbindung mit der Waschflasche *F* leicht herstellen. Vor Beginn des Durchsaugens, um z. B. die CO_2 zurückzuhalten, bringt man 300 ccm klaren Barytwassers von bestimmtem Gehalt in das Rohr und verbindet dasselbe luftdicht mit der *U*-Röhre II, welche genau wie I vorbereitet ist und stellt die Vereinigung mit dem Aspirator her. Nach Passieren von 600 Litern Luft fand Reiset das Barytwasser in der Waschflasche und der untersten Abteilung *B* des Zylinders vollständig mit Karbonat beladen, in *B*, nur milchig getrübt, in *B*,, noch völlig klar. Die CO_2 war also durch *B* + *B*, völlig absorbiert worden.

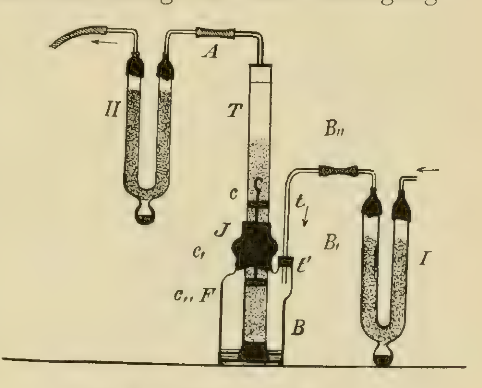


Fig. 35. Apparat von Reiset.

Ein ausgezeichnetes Mittel zur *Absorption von Sauerstoff ist Phosphor*, der in folgender Weise in die Stangenform gebracht wird, welche die Methode erfordert. Er wird im Wasserbade bei einer Temperatur

[1]) Nach W. Hempel l. c. p. 97.

von ca. 50 ° C unter Wasser in einer Eprouvette geschmolzen, so daß er darin eine 6 cm hohe Schicht bildet. Sodann taucht man eine möglichst konische Röhre von 2—3 mm lichtem Durchmesser mit ihrem weiteren Ende in den Phosphor, schließt hierauf die andere Seite mit dem Finger, hebt die Röhre aus dem Phosphor und führt sie in ein bereit gehaltenes Glas mit kaltem Wasser. Der Phosphor erstarrt und kann meist durch leichtes Klopfen oder durch einen dünnen Draht aus der Röhre herausgeschoben werden. Die Phosphorstangen *P* werden zweckmäßig in das abgebildete, von mir konstruierte Gefäß (Fig. 36) gebracht und halb mit Wasser bedeckt. Durch eine Drehung des mit einem $CaCl_2$-Rohr *R* kommunizierenden durchbohrten Hahnes wird die Verbindung mit dem Kulturraum hergestellt, und das Gas kann mittels eines Aspirators oder einer Pumpe durchgesaugtwerden. Das Vorhandensein und Absorbiertwerden von Sauerstoff erkennt man besonders im dunkeln Raume am Leuchten der Phosphorstangen, aber auch bei Tageslicht sieht man bei halbwegs größeren Sauerstoffmengen Rauchwolken vom Phosphor aufsteigen oder die über das Wasser emporragenden Stücke sich entzünden.

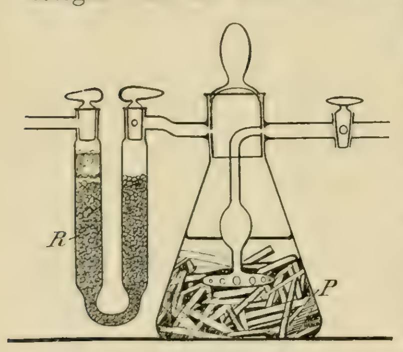


Fig. 36. Absorptionsgefäß nach Grafe zur Absorption von Sauerstoff.

Das angeschmolzene $CaCl_2$-Rohr fängt die Feuchtigkeit aus dem Absorptionsgefäß auf, so daß man die Menge des absorbierten Sauerstoffs auch durch Wägung des Absorbators, den man sehr gut auf die Wage stellen kann, zu bestimmen vermag. Ein Vorteil des Apparates besteht auch darin, daß er, lichtgeschützte Aufbewahrung vorausgesetzt, zu einer großen Reihe von Bestimmungen dienen kann. Dort, wo es sich um Demonstration des bei der Assimilation entwickelten Sauerstoffs handelt, verwendet man am besten Wasserpflanzen und fängt den von diesen im Lichte entwickelten und aus dem Wasser in Blasen emporsteigenden Sauerstoff in einem geeigneten Gefäße auf. Eine Anzahl von Stämmchen von Elodea canadensis wird an der Basis mit einer scharfen Scheere durchschnitten, damit die oft durch Schleim und Bakterien verklebten Enden der Gasentwicklung kein Hindernis bieten und mit den glatten Enden nach oben unter einem geräumigen Trichter in Wasser gebracht (Fig. 37 b), dem man zweckmäßig zur Erhöhung des CO_2-Gehaltes noch eine kleine Menge Sodawasser zufügt. Die Schnittfläche soll nicht zu dicht an einer Verzweigungsstelle liegen. Das Wasser muß einige Zentimeter über das Rohrende des Trichters ragen, welches mit einer wassergefüllten Eprouvette überdeckt wird. Stellt man nun die Apparatur in helles Licht, (man kann Auerlicht verwenden) so kann man alsbald aus den offenen Enden der Elodeastämmchen Gasblasen austreten sehen, welche sich, das Wasser in der Eprouvette verdrängend, in dieser ansammeln. Hebt man dann das Proberöhrchen vorsichtig, so daß keine Luft eindringen kann, und unter Verschluß mit dem Daumen ab, so kann man mit Hilfe eines glimmenden Spanes, der durch Sauerstoff zu lebhaftem Glühen angeregt wird, das Vorhandensein dieses Gases in der Eprouvette erkennen. Man kann auch direkt in zwei mit Wasser gefüllte Zylinder je eine Handvoll Cladophora geben und den einen Zylinder verdunkeln, den

andern belichten. In jenem sinken die Algenfäden zu Boden, in diesem bleiben sie infolge der sich zwischen ihnen ansammelnden Gasblasen oben schwimmen. L. und K. Linsbauer benutzen statt der Eprouvette ein Rohr, welches durch ein enges, mittels Hahnes *a* verschließbares Ansatzstück in einen etwas erweiterten Behälter 2 führt, der an seinem oberen Ende einen einfach durchbohrten Pfropfen als Verschluß trägt. Durch dessen Bohrung geht ein Rohr mit Hahn *b*, welches oben in einen kleinen Trichter endigt. Vor Beginn des Versuches wird bei geschlossenem Hahne *a* der Behälter 2 mit durch Natriumbisulfit entfärbter Indigolösung vollgefüllt, sodann der Pfropfen mit dem Trichterrohre bei geöffnetem Hahn *b* eingesetzt; es wird etwas Indigolösung über den Hahn *b* emporsteigen, der sodann gesperrt wird. Das Trichterrohr soll etwa bis zur Mitte von 2 hinabreichen. Jetzt dreht man die Eprouvette um, füllt 1 mit Wasser und setzt es unter Wasser auf das Rohr des mit Wasserpflanzen gefüllten großen Trichters auf. Das ausgeschiedene Gas sammelt sich zunächst im oberen Ende von 1. Um es von hier nach 2 zu bringen, wird 1 unter Wasser mit dem Daumen verschlossen und die ganze Vorrichtung in ein hohes wassergefülltes Glas eingetaucht (Fig. 37a), und hier erst wieder unter Wasser der Daumen entfernt. Sodann öffnet man den Hahn *a*. Da die Spannung des in 1 angesammelten Gases wahrscheinlich noch nicht ausreicht, um dieses aufsteigen zu machen taucht man die Vorrichtung in dem Zylinderglase bis zum Hahne *b* und öffnet jetzt auch diesen. Nun steigen Blasen empor. Dadurch wird Indigolösung aus 2 verdrängt und im kleinen Trichter aufsteigen, während sich 1 ganz mit Wasser füllt. Jetzt schließen wir wieder beide Hähne und ziehen die Eprouvette heraus. Die entfärbte Indigolösung ist nun wieder blau geworden. Die Indigolösung darf natürlich nur mit soviel der reduzierenden Lösung von Natriumbisulfit versetzt worden sein, daß sie eben entfärbt ist und sich, in einer breiten Schale an der Luft ausgegossen, sehr bald wieder blau färbt. Füllen wir eine 200—300 ccm haltende, luftdicht schließende Flasche bis zum Rande voll mit Indigolösung und entfärben sie durch Zusatz von wenigen Tropfen der Lösung von Natriumbisulfit, so können wir, wenn vorher einige an einen Glasstab gebundene Stämmchen von Elodea in die Lösung gesteckt worden sind, im Lichte blaue Schlieren von den grünen Pflanzenteilen aufsteigen sehen, den Weg der Sauerstoffentwicklung anzeigend; im Dunkeln bleibt natürlich die Lösung ungefärbt. Man kann durch die Blasenmethode auch direkt zeigen, daß bei Kultur unter blauem Licht, entsprechend der sistierenden Assimilation wenig, im gelben Licht ebenso wie unter normalem weißen Licht viele Blasen aufsteigen.

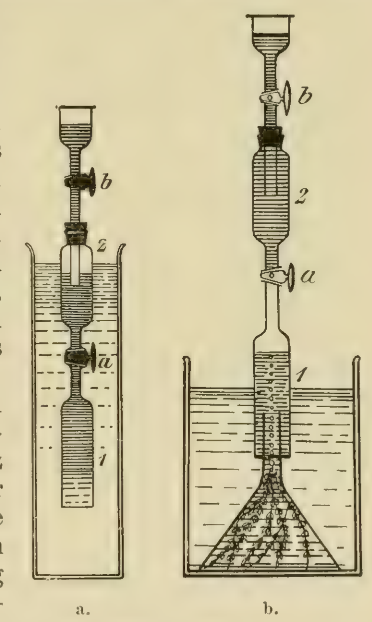
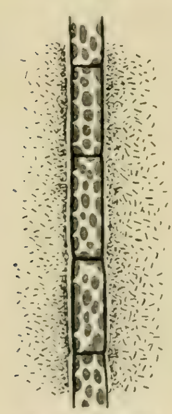


Fig. 37. Apparatur nach L. u. K. Linsbauer zur Demonstration der Sauerstoffabgabe bei der Assimilation.

Hoppe-Seyler verwendet zum *Sauerstoffnachweis defibriniertes Blut.* Elodeazweige werden mit verdünntem faulenden Blut

in einer Glasröhre eingeschmolzen. Die zunächst sich zeigenden Absorptionsstreifen des Hämoglobins im Spektroskop verwandeln sich, wenn durch die Assimilationstätigkeit der Elodea und den dabei entwickelten Sauerstoff das Hämoglobin in Oxyhämoglobin umgewandelt ist, in die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins. Engelmann geht folgendermaßen vor: Ein Gefäß mit defibriniertem Rinderblut wird an die Wasserpumpe angeschaltet und von Sauerstoff befreit. Während des Auspumpens, welches durch eine Temperatur von 35 ⁰ C unterstützt wird, schäumt das Blut, als ob es kochte. Das Blut soll in venösem Zustand verwendet und überdies dadurch mit überschüssiger CO_2 versehen werden, daß man es in ein mit CO_2 gefülltes, gut verkorktes Gefäß einschließt. Für die mikroskopische Beobachtung eignet sich am besten ein einzelnes Blatt von Elodea oder ein Blattstück von Hottonia. Es wird in einen großen Tropfen Blut gebracht, welches in breiter Schicht auf dem Objektträger ausgebreitet wurde. Nach 3—4 Minuten im direkten oder 10 Minuten im diffusen Tageslicht wird das Blut in der Nähe des Blattstückes bis auf ½—2 mm hell arteriell rot, und das arterielle hellrote Blut hebt sich scharf gegen das dunkle venöse ab. Der Effekt ist am besten unter schwacher Vergrößerung zu sehen, die hellrote Zone rings um das Blatt erweckt den Eindruck, als ob eine Lichtquelle hinter dem Blatt sich befände, welche es durchleuchtet. Auch ohne mikroskopische Beobachtung ist die Erscheinung zu sehen, besonders, wenn man das Ganze über einen Streifen weißen Papieres hält. Man kann durch abwechselnde Belichtung und Verdunkelung des Blattes die Farbenänderung des Blutes wiederholt beobachten. Vielleicht die allerbesten Methoden, um *fabelhaft geringe Spuren von Sauerstoff nachzuweisen*, beruhen auf der großen Reaktionsempfindlichkeit der Bakterien. Bacterium termo Cohn, das bei der Fäulnis einer Erbse in Wasser auftritt, ist dazu besonders geeignet, aber auch andere Bakterien, Infusorien usw. können verwendet werden. Es empfiehlt sich, Reinkulturen des betreffenden Organismus zu verwenden und anstatt eines Wassertropfens eine verdünnte neutralisierte Lösung von Fleischextrakt zu benutzen, in welcher die Bakterien beweglicher sind als in reinem Wasser. Der Tropfen soll so stark mit Bakterien beschickt sein, daß er dem bloßen Auge leicht getrübt erscheint. Ein besonders geringes Bedürfnis nach Sauerstoff zeigt Spirillum rubrum Esmarch, das demnach zum Nachweis kleinster Spuren dieses Gases geeignet ist. Im Dunkeln mit einem Spirogyrafaden unter dem Deckglas eingeschlossen (Fig. 38), verzehren die Bakterien den in der Flüssigkeit vorhandenen Sauerstoff und werden unbeweglich. In einem solchen Präparat sieht man die Mikroorganismen diffus über den ganzen Raum des Präparates verteilt. Läßt man nun durch einen Spalt Licht auf das Präparat fallen, das die Assimilationstätigkeit des eingeschlossenen Algenfadens und damit die Sauerstoffentwicklung anregt, sieht man die Bakterien in lebhafte Bewegung geraten und sich um den Faden drängen, von welchem der Sauerstoff ausgeht, also ihre diffuse Situation aufgeben. Mit Hilfe der Engelmannschen Methode kann man die assimilatorische Wirksamkeit der einzelnen Spektralfarben feststellen, indem man ein mikroskopisches Spektrum in der Ebene


Fig. 38. Engelmanns Bakterienmethode zum Sauerstoffnachweis.

des Objektes entwirft. Das Mikroskop ist in einem Kasten postiert, der das Seitenlicht abhält, oder man verwendet nach E. G. Pringsheim eine photographische Plattenschachtel 6×9, die oben und unten eine runde Öffnung besitzt und so auf den Objekttisch gesetzt wird, daß das darin befindliche Präparat von unten beleuchtet wird und von oben beobachtet werden kann. Die Betrachtung findet in der Dunkelkammer mit Hilfe einer geeigneten künstlichen Lichtquelle statt. Engelmann verwendet entweder die Methode der simultanen oder die der sukzedanen Beobachtung. Bei der ersteren wird ein zylindrisches, gleichmäßig gefärbtes Objekt, eine Fadenalge oder dergleichen senkrecht zur Richtung der Fraunhoferschen Linien eingestellt, so daß es mit sämtlichen Spektralfarben belichtet ist. Die Bakterien beginnen beim allmählichen Öffnen des Spaltes zuerst da beweglich zu werden, wo am meisten Sauerstoff produziert wird. Bei einer gewissen Spaltweite liefert die räumliche Anordnung der Bakterien eine gewissermaßen graphische Darstellung der Assimilationsenergie in den einzelnen Bezirken, indem sie sich dort am meisten anhäufen und auf die größten Entfernungen hin beweglich werden, wo am meisten Sauerstoff entwickelt wird. Bei der sukzessiven Beobachtung wird das Objekt genau in der Richtung der Fraunhoferschen Linien eingestellt, so daß es monochromatisch beleuchtet ist. Für jede Wellenlänge muß die Spaltbreite gesucht werden, bei der die Bewegung gerade anfängt oder aufhört. Auch der Nachweis, daß nur durch die Chloroplasten Sauerstoff entwickelt wird, läßt sich durch die Bakterienmethode führen, indem mit Hilfe eines statt des Beleuchtungsapparates am Mikroskop angebrachten Objektives das Bild eines hell beleuchteten kleinen Loches in einem undurchsichtigen Schirm in die Ebene des mikroskopischen Objektes projiziert wird. Finden sich an einem Objekt chlorophyllfreie Stellen und werden nur diese beleuchtet, so tritt keine Wirkung auf die Bakterien ein, wohl aber, wenn der helle Kreis die grünen Stellen trifft, an denen dann die Bakterien beweglich werden und sich sammeln. Eine ebenso scharfe Methode zum *Nachweise von Sauerstoff wie die durch Bewegung von Bacterium termo* ist das *Aufleuchten der Kulturen von Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, welche auf die geringsten Spuren des Gases reagieren, unter dem Mikroskop. Molisch konnte mit seinen Leuchtbakterien zeigen, daß im Exsikkator getrocknete, rauschdürr gewordene Blätter von Lamium album noch Sauerstoff abgeben, also noch Assimilationstätigkeit zeigen, wenn auch natürlich diese Sauerstoffabgabe nichts mit einer Lebenstätigkeit im engeren Sinne des Wortes (Plasmafunktionen) zu tun hat.

Gewissermaßen als Übergang zu den quantitativen Methoden sei die Blasenzählmethode genannt. Die Blasenzählmethode beruht darauf, daß abgeschnittene Blätter oder Zweige von Wasserpflanzen im Licht aus ihren Schnittflächen Gasblasen aufsteigen lassen, denn der Sauerstoff ist viel weniger löslich in Wasser als die Kohlensäure, er steigt also, wenn das Wasser an Sauerstoff gesättigt ist, in Form von Blasen auf. Die Zahl der in einer bestimmten Zeit auftretenden Gasblasen kann ein Maß der Assimilationstätigkeit unter verschiedenen Umständen abgeben, wobei aber die äußeren Bedingungen wie Licht, Temperatur usw. sehr gleichmäßig gehalten sein müssen, da sich bei ihrer Veränderung auch die Intensität der Assimilation leicht ändert. Sind die Interzellularen entsprechend groß wie bei Elodea, Ceratophyllum

u. a. Wasserpflanzen, so entweicht das Gas in gleichmäßigen großen Blasen langsam genug, daß die Blasen gezählt werden können. Mitunter verklebt sich die Schnittfläche teilweise, so daß die Blasen zahlreich und klein austreten und nicht gezählt werden können, die Schnittfläche wird dann erneuert. Die Pflanzenstücke werden auch hier, mit der Schnittfläche nach oben, an einem Glasstab befestigt. Die Schnittfläche darf nicht zu tief versenkt sein und muß einen konstanten Abstand vom Wasserspiegel haben, da der Druck des Wassers der Blasenentwicklung entgegenwirkt. Immerhin zeigt ein und derselbe Pflanzenteil unter denselben äußeren Umständen durch Stunden eine recht konstante Blasenabscheidung. Für annähernde Bestimmungen und Vorversuche ist die Blasenzählmethode wegen ihrer Einfachheit den volumetrischen Analysen vorzuziehen. Ferner ist man wegen der kurzen Versuchsdauer in der Lage, natürliches Tageslicht zu benutzen, das während kurzer Zeit als konstant angenommen werden kann. Mit Recht betont Pringsheim, daß trotzdem die Beleuchtung mit künstlicher Lichtquelle wird vorgezogen werden müssen, wo es die Fragestellung erlaubt. Um das relativ schwache Licht einer Auerlampe zu verstärken, kann man einen großen wassergefüllten Glaszylinder als Linse benutzen und die Pflanze in dessen Brennstreifen bringen. Man erreicht so gleichzeitig eine Ausschaltung der ultraroten Strahlen, welche die Assimilation und die Eindeutigkeit des Versuchserfolges beeinträchtigen. Die Zählung der Blasen wird mit einer Sekundenstoppuhr oder mittels der akustischen Signale eines Metronoms vorgenommen, wenn auch natürlich eine gewöhnliche Taschenuhr ebenfalls benutzt werden kann. Die Einleitung von Kohlensäure, um eine gleichmäßige Kohlensäuretension zu bewirken, sollte lieber vermieden werden, da eine Übersättigung der Kulturflüssigkeit mit Gas einen von der Assimilation unabhängigen Gasstrom hervorrufen kann. Das Wasser erschöpft sich, besonders wenn die Temperatur nicht zu hoch ist, nicht so leicht an Kohlensäure, und eine Gleichmäßigkeit der Tension wird besser durch längeres vorheriges Stehen im Versuchsraume erzielt. Große Kulturgefäße, eventuelles öfteres Wechseln des Wassers beugen diesem Nachteile vor und von Unregelmäßigkeiten überzeugt man sich dadurch, daß man die Pflanze zeitweise ins Dunkel stellt, wo normalerweise die Gasblasenentwicklung bald aufhören muß; ist das nicht der Fall, dann vollziehen sich störende Nebenprozesse. Nach Angelstein liefert destilliertes Wasser, selbst wenn es mit Kohlensäure angereichert ist, sehr geringe Blasenzahlen; besser ist Leitungs- oder Brunnenwasser, deren Gehalt an Bikarbonaten einen größeren Vorrat an verarbeitbarer Kohlensäure gewährleistet. Ein weiterer Nachteil der Methode ist, daß die Gasblasen wohl kaum jemals bloß aus Sauerstoff bestehen, sondern daß diesen immer auch Stickstoff und Kohlensäure beigemengt ist, so daß unter ungünstigeren Assimilationsbedingungen, z. B. im Winter, nur ein Viertel des Gasvolumens von Sauerstoff gebildet wird, anderseits geht bei schwacher Assimilationstätigkeit Sauerstoff durch Diffusion verloren, so daß mitunter die Gasblasenzählung kein richtiges Bild der Assimilationsenergie hervorruft. Der größte Nachteil der Methode ist aber der, daß sie nur bei Wasserpflanzen angewendet werden kann. Sie leistet Brauchbares, wenn es sich darum handelt, schnell über die Wirksamkeit verschiedenfarbigen Lichtes, die Brauchbarkeit irgendwelcher Nährlösungen, die Temperatur- und Helligkeitseinflüsse ein Bild zu bekommen. Bei Wechsel der Bedingungen hat

man darauf zu achten, daß die Beobachtung erst nach einiger Zeit erfolgen kann, wenn sich die Pflanze an die neuen Bedingungen gewöhnt hat, daß die Pflanze beim Wechseln von Kulturflüssigkeiten möglichst unverrückt an ihrem Platze bleibt. Daß die Assimilationsenergie nur im Frühling und Sommer stark genug ist, um die Blasenzählung sicher zu gestalten, wurde bereits erwähnt. Kohl hat den Fehler durch wechselnde Blasengröße mikrometrisch auszuschalten gesucht, indem er das Volumen der Gasblase mikrometrisch bestimmte. Ein Ausschnitt aus einem Elodeablatt samt Stengel wurde auf den Boden eines kleinen flachen Schälchens gebracht und dort mittels eines Glasplättchens unter Wasser festgehalten. Die austretende Gasblase, die assimilatorisch im Lichte ausgeschieden wird, nimmt annähernd Kugelgestalt an und aus ihrem mikrometrisch festgestellten Durchmesser läßt sich das Volumen berechnen. Die Gasblasenzählmethode kann als Maß für die Assimilation von Wasserpflanzen nur bei durchschnittlich mittleren Luft-, Temperatur-, Kohledioxydmengen ausreichen, sie versagt aber, wenn sie auf einen weiteren Umkreis von Umständen an-

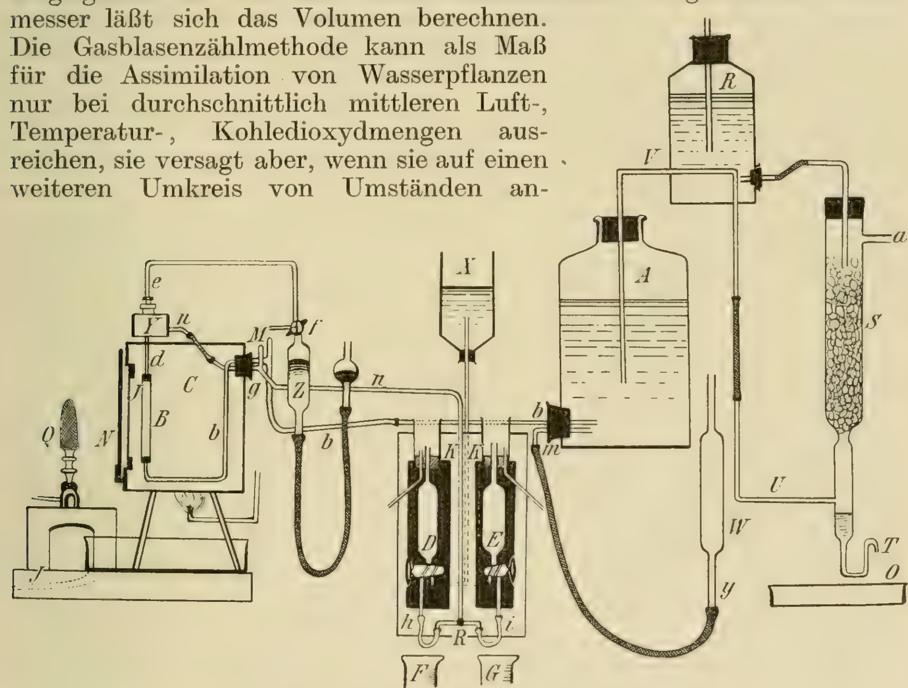


Fig. 39. Apparat von Blackmann.

gewendet werden soll; ist die Assimilationsgröße gering, so kann der ganze entbundene Sauerstoff im Wasser gelöst bleiben, es treten also keine Blasen auf; ist die Temperatur höher, so bestehen die Gasblasen größtenteils aus anderen Gasen, die physikalisch aus dem Wasser entweichen, und ist die Kohlensäuremenge des Wassers groß, so bestehen die Gasblasen größtenteils aus Kohlendioxyd. Diesen Ungenauigkeiten trägt der allerdings etwas komplizierte Apparat von Blackmann Rechnung (Fig. 39), in welchem ein kontinuierlicher Wasserstrom, der Kohlensäure gelöst enthält, über die assimilierende Pflanze fließt und wo die Differenz im Kohlensäuregehalt des Wassers vor und nach Kontakt mit der Pflanze ein Maß für die Assimilation abgibt. Die Pflanze ist in einer Glaskammer eingeschlossen und Temperatur, Luft, Kohlensäurezufuhr lassen sich genau regeln. Der Strom des kohlensäure-

gesättigten Wassers fließt durch seine Schwere aus dem Gefäß *A* nach der Kammer mit der Pflanze *B* (diese erscheint hier nur schematisch im Querschnitt und ist genau in Fig. 43 gezeichnet), die im Wasserbade *C* befindlich ist und nach dem Durchströmen der Kammer von hier auf dem Wege *d*, *Y*, *n*, *K* von unten in die eine oder andere der beiden 200 ccm-Pipetten *D* und *E* und schließlich durch Überfließen von hier in die Meßzylinder F oder G. Die Wasserpflanze wird in einer flachen, senkrechtstehenden, an der Stirnseite mit Glas versehenen Kammer von ovalem Umfange 18 cm lang, 11 cm breit untergebracht, deren Rand mit einem schmiedeeisernen Band von 14 qmm Breite versehen ist; in dieses sind die rückwärtige und vordere Glasplatte, welche die Kammer bilden, durch eine Wachs-Harz-Vaselinmischung fest eingekittet, die rückwärtige dauernd, die vordere zum Herausnehmen eingerichtet. Die Kammer enthält ein aus Silberdraht gefertigtes Netz mit 6 mm breiten Maschen, welches gegen die Rückseite der Kammer lehnt und an welches die Versuchspflanze mit Draht befestigt ist. Alle mit Wasser in Berührung stehenden Metallteile sind aus Silber und überdies mit Wachs überzogen. Der Eisenrand der Kammer ist durch das Einlaßrohr *b* an seinem untersten und das Auslaßrohr *d* an seinem höchsten Punkte durchbrochen, nahe dem letzteren ist eine Öffnung für ein Thermometer zur Messung der Innentemperatur. Unmittelbar über dem Einlaßrohr befindet sich ein Siebplättchen, welches die Einlaßöffnung überquert und bewirkt, daß das einfließende Wasser nicht im Strahl herabfällt, sondern nach allen Richtungen zerstäubt. Der tatsächliche Abfall des Wasserstromes bei seinem Weg durch den Apparat ist durch die Niveaudifferenz zwischen der Mündung des mittleren Rohres der Mariotteschen Flasche *A* und der oberen Mündung der Pipetten *E* und *D* gegeben, wo das Wasser überfließt; in der Stunde passieren ca. 300 ccm den Apparat; die Geschwindigkeit des Stromes wird durch die Meßzylinder gemessen, welche das überfließende Wasser aufnehmen; und jede Unregelmäßigkeit des Stromes kann durch Heben oder Senken der Pipetten bzw. des Brettes, an dem sie befestigt sind, bewirkt werden. Das kupferne Wasserbad wird durch einen Thermoregulator auf konstanter Temperatur gehalten, in der vorderen Wand des Bades ist ein breites Glasfenster *J* zur Erhellung der Assimilationskammer eingelassen und durch einen starken Strom kalten Wassers vor der Erwärmung durch den Brenner des Bades bewahrt. Dieses Kühlwasser befindet sich in dem Glasmantel *J*—*N*. Das CO_2-Gas war aus Marmor und Salzsäure entwickelt, gewaschen und das Wasser durch andauerndes Schütteln mit dem Gas gesättigt. Die entsprechend verdünnte CO_2-Lösung wurde in die Flasche *A* eingefüllt, von wo sie durch das Rohr *b* nach der Kammer *B* abfließt. Dadurch wird durch die mittlere Röhre *V* Luft in die Flasche eingesogen und nach dem Prinzip der Mariotteschen Flasche ist der Betrag des ausfließenden Wassers konstant und unabhängig von dem Niveau der Flüssigkeit in der Flasche. Um die eintretende Luft mit ebensoviel Kohlensäure zu beladen, wie die Lösung in der Flasche enthält, passiert diese vor dem Eintreten den Kohlensäureentwickler *S*, in welchem Salzsäure bestimmter Stärke zu Marmor tropft, um den Entwickler bei *T* als neutrale Flüssigkeit zu verlassen. Der größte Vorteil der ganzen Methode beruht in der Bestimmung des Betrages der gelösten Kohlensäure in einer Probe der Flüssigkeit, die von *A* zur assimilierenden Pflanze nach *B* fließt und in einer Probe der nach *D* oder E nach dem Kontakt

mit der Pflanze abfließenden Flüssigkeit. Es werden immer Proben von 200 ccm benutzt und für die erste Prüfung aus der Zuflußflasche durch die Röhre *m* in die 200 ccm-Pipette *W* zu einer bestimmten Zeit abgezogen, für die zweite Probe 200 ccm der Flüssigkeit in *D* oder *E*. Der Dreiweghahn *K* und die Ausschaltung der Kautschukverbindung bei *h* oder *i* gestattet den überfließenden Wasserstrom in die eine oder andere Pipette zu lenken, um Proben zu entnehmen. Die Prüfung geschieht maßanalytisch durch Zufügung einer bestimmten Menge titrierter Barytlösung zur Absättigung der Kohlensäure und Rücktitrieren des Überschusses durch gestellte Salzsäure. Die durch das Abziehen der Flüssigkeit leer gewordene Pipette muß, damit die Zirkulation des Stromes nicht gestört werde, mit einer anderen Flüssigkeitsmenge gefüllt werden, das geschieht aus dem Flüssigkeitsreservoir *X* mit Wasser, welches ca. 7 % Alkohol und etwas Methylenblau enthält. Das geringere spezifische Gewicht dieser Flüssigkeit ermöglicht es, dieselbe in die Pipette bis zum Rande des einfließenden Stromes der eigentlichen Flüssigkeit einzufüllen, ohne sie damit zu mischen. Die verschiedene Farbe ermöglicht es überdies, die beiden auseinander zu halten und zu beurteilen, wann die Zusatzflüssigkeit abgeflossen ist, worauf eine neue Analyse einsetzen kann. Wenn der Inhalt beider Pipetten, sobald die blaue Flüssigkeit völlig übergetrieben worden war, für die Analyse abgezogen wurde, kann die Flüssigkeit der ganzen Kammer schließlich auf ihren CO_2-Gehalt untersucht werden. Wenn der Strom 300 ccm pro Stunde fördert und jede Pipette 200 ccm faßt, kann alle 40 Minuten eine Analyse ausgeführt sein. In der Praxis ist eine Analyse pro Stunde genügend, die restlichen 20 Minuten tropft die Lösung unbenutzt in die Meßzylinder. Sowohl bei infolge höherer Temperatur starker Assimilation als bei Überschuß an CO_2 entwickeln sich große Gasblasen, welche niemals allein aus Sauerstoff bestehen und demnach ein unrichtiges Bild von der Assimilationsintensität geben würden; aber auch die Verminderung der Kohlensäure würde kein richtiges Maß geben, weil Kohlensäure aus der Kulturlösung physikalisch in die Blasen hineindiffundiert. Dieser physikalische Verlust muß also in Rechnung gezogen und vom physiologischen Kohlensäureverbrauch abgezogen werden. Zu diesem Zweck werden die von der Pflanze abgegebenen Gasblasen von der Flüssigkeit getrennt, gesammelt und zu Zeiten mittels des Ventils bei *Y* und des Gassammlers *Z* aufgefangen. Der Wasserstrom geht nach Verlassen der Assimilationskammer bei *d* unmittelbar durch die hohle Metalltrommel *Y*, welche auf dem Wege nach dem Ausflußrohr *n* liegt. Diese Trommel enthält die Auslaßröhre *e*, durch welche das über das Wasser aufsteigende Gas, und nur dieses allein, nach dem Gassammelgefäß *g* abgezogen wird. *Z* ist mit einem Quecksilbergefäß in Verbindung, das gesenkt wird, so daß durch *f* eine starke Saugung geübt wird, die das Gas nach dem Ventil am oberen Ende der Trommel treibt. In der Trommel befindet sich ein sehr leichter, hohler Metallschwimmer; ist die Trommel voll Wasser, dann schwimmt der Schwimmer so hoch als möglich empor und drückt eine kleine, an einem geölten Seidenfaden beweglich aufgehängte Metallscheibe gegen die Kante des Auslaßrohres und verhindert so irgendein Entweichen von Wasser in der Richtung *e f*. Wenn eine bestimmte Gasmenge aus der Kammer aufgefangen worden ist, sinkt der Schwimmer durch sein eigenes Gewicht, und die Scheibe fällt und gestattet ein Aussaugen des Gases durch *e*, bis das steigende Wasser Schwimmer und Scheibe

wieder emportreibt. Vom Empfänger Z aus wird durch Drehen des Hahnes f und Heben des Quecksilberreservoirs das Gas durch das Seitenrohr in ein Eudiometer zur Analyse übergeführt, wo durch Behandeln mit KOH der absolute Betrag gasförmiger Kohlensäure, die aus dem Wasserstrom physikalisch entwichen ist, bestimmt und zur Korrektur benutzt wird.

Beispiel[1]): Die Assimilationsgröße von kräftigen Elodeazweigen bei einer Belichtung = 5,7, einer Temperatur von zirka 20 ^{0} C und einer Kohlensäurezufuhr von zirka 0,03 % (zirka $^1/_6$-Sättigung) wurde bestimmt. Auf das Silbernetz wurde ein dichter Belag der Elodeazweige gelagert und mit Wollfäden daran befestigt. Das Glasfenster wurde dann sorgfältig in die Metallfassung eingedichtet. Nachdem die Kammer in dem vorher auf die Versuchstemperatur gebrachten Wasserbad schräg befestigt ist, wird aus A die bereits vorbereitete Kohlensäurelösung durchgeleitet, indem das Auslaßrohr e gerade oberhalb des Ventils Y ausgeschaltet und gesaugt wird, bis die Lösung zuerst die Kammer, dann das Ventil und die Röhren füllt. Sobald der zu einer der Pipetten E oder D führende Hahn R gedreht wird, beginnt der Strom. Natürlich enthält erst nach einiger Zeit, mindestens nach einer Stunde, die Pipette die volle Menge des Versuchsendproduktes, so daß erst dann zur Analyse geschritten wird. Die Pipette wird zuerst mit der blauen Flüssigkeit gefüllt, und erst eine Stunde nach dem Abfließen dieser wird der Versuch angestellt. Die Kohlensäure in 200 ccm der von D ablaufenden Flüssigkeit entspräche 22,18 ccm $\frac{n}{10}$ HCl im Abfluß und 26,31 ccm im Zufluß, so sind 4,13 ccm $\frac{n}{10}$ HCl für die verbrauchte Kohlensäure entfallen. Als Mittel von sieben Versuchen ergab sich für den 200 ccm entsprechenden Zufluß 25,79 ccm $\frac{n}{10}$ HCl, der korrespondierende Betrag des Abflusses war 19 ccm. Daher beträgt der Durchschnittswert der Kammer 11,20 ccm $\frac{n}{10}$ HCl per 100 ccm Flüssigkeit = 0,0279 % CO_2 (1 ccm $\frac{n}{10}$ HCl = 0,00 249 g CO_2). Die Differenz zwischen Zu- und Abfluß gibt das Maß an Kohlensäure, das aus der Kammer verschwunden ist (durch Assimilation), d. i. 6,79 ccm $\frac{n}{10}$ HCl = 0,01 693 g CO_2 pro 200 ccm der Lösung, und diese Zahl muß pro Stunde berechnet und in bezug auf die Gasblasen und die Atmungsgröße korrigiert werden. Das Gewicht der in der Kammer pro Stunde verschwundenen Kohlensäure ist $0{,}01\,693 \cdot \frac{316{,}5}{200} = 0{,}02\,679$ g. Das Volumen der in Form von Gasblasen aufgefangenen Gasmenge war 37,3 ccm, wovon 4,8 ccm sich als CO_2 erwiesen, entsprechend 1,3 ccm CO_2 pro Stunde = 0,00 239 g CO_2 (1 ccm CO_2 wiegt 0,00 184 g). Die Atmung wurde in einem parallelen

[1]) F. Blackmann and M. Smith, Experimental Research on Vegetable Assimilation and Respiration VIII, A New Method for Estimating the gaseous Exchanges of Submerged Plants. Proceed. of the royal Society, B Vol. 83 (1911).

Dunkelversuch durch Trockengewichtsabnahme bestimmt und pro 1 g Elodea die Entwicklung von 0,00 125 g CO_2 pro Stunde, also für die verwendeten 1,955 g Elodea die Entwicklung von 0,00 244 g CO_2 pro Stunde gefunden. Wir haben jetzt alle Daten, um die wirkliche Assimilationsgröße der verwendeten 137 ccm Elodea unter den genannten Versuchsbedingungen zu bestimmen:

CO_2 in der Kammer pro Stunde verschwunden	0,0268
CO_2 in Form von Gasblasen entwichen	0,0024
Assimilation bestimmt zu	0,0244
Atmungskohlensäure bei 20 ° 3 C	0,0024
Wirkliche Assimilationsgröße	0,0268

Eine *einfachere Versuchsanstellung* (Fig. 40) *beschreibt* Kniep[1]): Die Pflanze, ein Elodeasproß, wird in eine Kuvette gebracht, welche mit filtriertem Wasser vom Standort der Pflanze gefüllt ist. Die Wasseroberfläche in der Küvette *K* wird mit der 0,5 cm starken Schicht Olivenöl *P* bedeckt. Darauf befindet sich der Korkschwimmer *S*, durch den ein kurzes Glasrohr geführt ist, das einerseits in die Luft, nach unten zu ins Wasser hineinragt. Vor dem Versuch wird in eine Flasche von bekanntem Inhalt mit Hilfe des Hebers *H* Wasser abgefüllt und diese nach kurzem Durchspülen mit eingeschliffenem Glaspfropfen gut verschlossen. Dasselbe geschieht unmittelbar nach jedem Versuch, wobei man vorher durch vorsichtiges Umrühren für eine gleichmäßige Verteilung des im Wasser gelösten Sauerstoffs gesorgt hat. Der im Wasser gelöste Sauerstoff wird in beiden Flaschen nach dem Verfahren von L. W. Winkler jodometrisch bestimmt: in die Flasche bringt man durch eine bis auf den Boden derselben reichende Pipette 1 ccm jodkalihaltige Natronlauge (100 ccm reinster Natronlauge vom spezifischen Gewicht 1,35 g werden mit 10 g Jodkali versetzt, die so erhaltene Flüssigkeit darf beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure Stärkelösung nicht sofort bläuen und Karbonate nicht in größeren Mengen enthalten) und fügt sofort 1 ccm Manganchlorürlösung hinzu, die man durch Auflösen von 400 g $MnCl_2 + 4\,H_2O$ in 1000 ccm Wasser erhalten hat, verschließt, schüttelt und läßt stehen, bis sich der entstandene Niederschlag von manganiger Säure abgesetzt hat; dann trägt man mittels einer langgestielten Pipette 3 ccm rauchende Salzsäure ein, verschließt und schüttelt von neuem; der Niederschlag löst sich unter Ausscheidung einer äquivalenten Menge Jod, die mit $\frac{n}{10}$ Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkekleister titriert wird. 1 ccm der Thiosulfatlösung entspricht 0,0 007 984 g = 1,11 955 ccm Sauerstoff von 0 ° und 760 mm Barometerstand. Ferner muß das

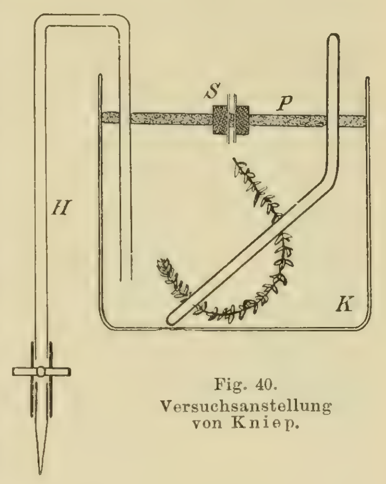


Fig. 40. Versuchsanstellung von Kniep.

[1]) H. Kniep, „Photosynthese" im Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Jena 1912.

in Blasenform ausgeschiedene Gas analysiert werden. Bei konstantem Licht bleibt der Blasenstrom und dessen Zusammensetzung konstant, daher ist nur von Zeit zu Zeit eine Analyse durchzuführen; das kann mit Hilfe des Mikroanalysators von Krogh geschen (Fig. 41). Der untere Teil E des *Apparates von Krogh* wird in das Rohr des Schwimmers eingeführt, nachdem hier mit einer Wasserstrahlpumpe die Ölschicht abgesaugt worden ist. Nachdem eine genügende Gasmenge aufgefangen ist, wird der Apparat entfernt und das Gas sofort analysiert. Das in E aufgefangene Gas wird durch Zurückdrehen der Schraube S in das Kapillarrohr gesaugt und hier das Volumen abgelesen. Darauf wird das in E befindliche Wasser durch alkalische Pyrogallollösung ersetzt und das Gas nach E zurückgebracht; hier findet die Sauerstoffabsorption statt, worauf im Kapillarrohr neuerdings das Volumen bestimmt wird. War das Gas bloß Sauerstoff ,so muß jetzt das Gasvolumen völlig absorbiert sein, anderenfalls ersetzt man das Pyrogallol in E durch Kalilauge und läßt wieder absorbieren oder bezieht die Differenz direkt auf Kohlensäure. Die das Kapillarrohr umgebende Hülle enthält Wasser zur Konstanterhaltung der Temperatur; die obere Öffnung des Apparates dient zu dessen Reinigung. Das Kapillarrohr hat eine Länge von 20 mm, was einem Volumen von 1 ccm entspricht. Die Verschiebung der Gasblase geschieht vermittels der in Quecksilber tauchenden Schraubvorrichtung, zur Erleichterung der Ablesung kann man eine 6—8 fach vergrößernde Linse benutzen, die in einem oben zugeschärften rechteckigen Holzklotz halb eingelassen ist, um so immer bei horizontalem Stand ablesen zu können. Es kommt besonders darauf an, die Meßkapillare möglichst rein zu erhalten. Zu diesem Zweck steckt man sie in die eine Bohrung eines Kautschukstöpsels, welcher auf eine Flasche paßt, und in dessen anderer Bohrung ein Glasrohr steckt, das zur Wasserstrahlpumpe führt. Man läßt von oben starke Schwefelsäure oder ein Gemisch von Kaliumbichromat und Schwefelsäure einfließen und saugt nach unten durch; damit das seitliche Ansatzstück und das darin befindliche Wasser und Quecksilber nicht mit der Säure in Berührung komme, hat man zuvor ein Luftbläschen als Abschluß dazwischen geschaltet.

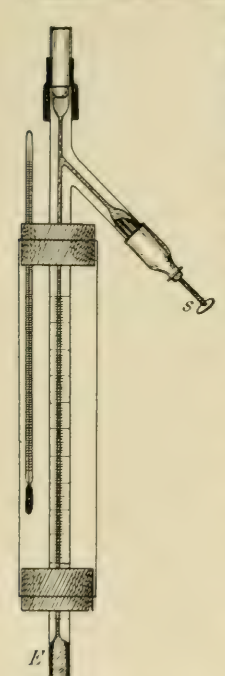


Fig. 41. Apparat von Krogh.

Fig. 42. Mikrorespirometer von Thunberg.

Ein Apparat zur Messung sehr kleiner Gasquantitäten ist durch das „Mikrorespirometer“ (Fig. 42) repräsentiert (Thunberg). Zwei kleine Gasflaschen von 2—3 ccm Inhalt sitzen an den Seitenteilen des verzweigten Kapillarrohres durch Schliff fest. An dem Rohr sind zwei T-Hähne, der Mittelteil ist ungeteilt und führt einen Petroleumtropfen von 3 mm Länge als Index, dessen Wanderungen Änderung im Druck innerhalb der Flaschen anzeigen. Der Apparat steht zur Konstant-

erhaltung der Temperatur bis über die Schliffe in Wasser. Um den Sauerstoffverbrauch, z. B. beim Atmungsprozeß zu zeigen, wird der Boden der Gefäße mit Kalilauge bedeckt und in eine Flasche das Organ gebracht; ist keine Kalilauge darin, so zeigt die Wanderung des Tropfens Steigen und Fallen des respiratorischen Koeffizienten an. Zur Bestimmung der Assimilation bringt man auf den Boden der Flasche ebenso alkalische Pyrogallollösung. Bei allen diesen Versuchen ist zu beachten, daß die starke Kalilauge des Pyrogallols natürlich auch Kohlensäure absorbiert, was einen Fehler bedingt.

Schließlich kann man die Sachssche Blatthälftenmethode bei Landpflanzen anwenden, mit welcher man die durch Assimilation hervorgerufene Zunahme des Trockengewichtes bestimmt. Die Blätter werden vor dem Versuche von der Pflanze abgetrennt, damit kein Verlust durch Ableitung der Assimilate geschehe, und dann aus einer Blatthälfte ein Stück herausgeschnitten, dessen Trockengewicht genau bestimmt wird; nach dem Versuch wird das Trockengewicht eines genau gleich großen Stückes aus der anderen Blatthälfte festgestellt und die Differenz auf die Produktion der Assimilate bezogen.

Um die Abhängigkeit der Kohlensäureassimilation von der Temperatur zu zeigen, hat Blackmann[1]) einen Apparat konstruiert, der es ermöglicht, *alle in Betracht kommenden Verhältnisse sehr konstant zu erhalten*. Die abgeschnittenen Blätter werden in eine flache Glaskammer (Fig. 43) eingesetzt, durch deren rückwärtige Scheibe die Drähte vom Thermoelement am Blatt zum Galvanometer laufen. Die Kammer ist aufrecht auf einem Holzrahmen montiert und dieser wird in einen rechteckigen, mit Wasser gefüllten Präparatenzylinder eingesetzt, welcher oben mit einem passenden Korkstück verschlossen ist. Durch entsprechende Bohrungen des Korkes ziehen die Luftstromröhren von dem CO_2-Erzeuger nach der Kammer (A) und von der Kammer nach den Pettenkoferröhren (B); die engen Schläuche E und F an der Rückwand enthalten die elektrischen Drähte. Ferner ist die Röhre C vorhanden, die von der Wasserleitung auf den Boden des Wasserbades führt und breit genug ist, um eine lebhafte Wasserzirkulation zu ermöglichen. Die Löcher D und G dienen zum Ausfließen des ins Wasserbad einströmenden Wassers respektive für das die Badtemperatur messende Thermometer. Der durch A einströmende Luftstrom zieht durch ein Dreiwegglasrohr, damit er die Badtemperatur annehmen kann, das Ende H dieses Systems von Glasröhren kann geöffnet werden, um Wasser einzulassen, welches das Blatt benötigt. Der Luftstrom geht

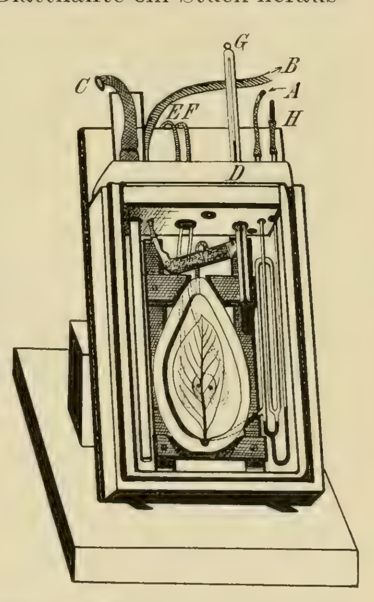


Fig. 43. Pflanzenkammer von Blackmann, die auch im vorgeschilderten Apparat Fig. 39 Verwendung findet.

[1]) F. Blackmann and G. Matthaei, Quantitative Study of Carbon-Dioxide Assimilation and Leaf-Temperature in Natural Illumination. Proceed. of the Royal Soc. Vol. B. 76, 404 (1905).

nach Verlassen der Kammer durch ein Chlorkalziumrohr, um hier getrocknet zu werden. Das ganze Bad samt der Glaskammer kann an einem Scharnier in einen innen geschwärzten Behälter horizontal oder vertikal oder in jede beliebige Stellung umgelegt werden. Das Wasserbad wird infolge der Notwendigkeit, verschiedene Lagen einzunehmen, nicht direkt durch einen Brenner, sondern mittels eines vorgewärmten Wasserstromes geheizt, eventuell bei Sonnentemperatur durch kaltes Wasser entsprechend abgekühlt. Die Temperatur, welche das Blatt durch natürliche oder künstliche Beleuchtung während der Assimilation erreicht, wird thermoelektrisch gemessen. Für die Versuche im Freien war das abgeschnittene Blatt an seinen Rändern an einem kleinen, dünnen, rechteckigen Brettchen befestigt, das mit seinem unteren Rande drehbar an einem starken Horizontalbalken befestigt war. Das Brettchen besaß eine ovale Öffnung, etwas kleiner als das Blatt, und über diese war das Blatt gespannt. Der Blattstiel tauchte in ein kleines Wassergefäß im Holzbalken und blieb im Wasser, welche Stellung auch das Brettchen am Balken einnehmen mochte. In die Mittelrippe des Blattes war ein Thermoelement eingesenkt, und die freien Drahtenden hingen in Quecksilbernäpfe herab, die sich beiderseits des Wassergefäßes befanden. Durch ein Loch des Balkens war eine Röhre gezogen, die ein Thermometer und das Kontrollthermoelement führte und mit Wasser von beliebiger Temperatur gefüllt werden konnte, dabei sorgfältig vor direkter Sonnenbestrahlung geschützt war. Die beiden Thermosäulen waren einerseits miteinander, anderseits mit dem Galvanometer durch Drähte verbunden, die zu den Quecksilbernäpfen im Horizontalbalken führten.

Fig. 44. Timirazeffs Mikro-Eudiometer.

Man kann aber auch, *statt den abgegebenen Sauerstoff zu bestimmen, die Aufnahme der Kohlensäure messen.* Pfeffer führt das in der Weise aus, daß in ein graduiertes, oben kolbig erweitertes Rohr von 26 cm Länge und 40 ccm Volumen (der erweiterte Teil faßt noch außerdem 45 ccm) ein Camelia-Blatt mittels eines Holzstäbchens eingeführt wurde, nachdem die Blattfläche vorsichtig zusammengerollt worden war. Am Blattstiel ist ein Draht befestigt, der das Blatt wieder aus der Röhre herauszuziehen gestattet. Das Rohr taucht unten in Quecksilber, das zur Vermeidung der schädlichen Quecksilberdämpfe mit einer Schicht Wasser überlagert ist. Nun wird das ganze System, nachdem der Luftraum der Röhre mit Kohlensäure gefüllt ist, im Lichte gehalten; ein Teil der Kohlensäure wird dabei durch Assimilation verbraucht. Zieht man nun das Blatt durch das Quecksilber heraus und läßt statt dessen ein kleines Stück Ätzkali aufsteigen, das sich im Wasser zu Kalilauge löst, so findet eine Asorption der überschüssigen Kohlensäure statt. Vor dem Versuch war das Quecksilber durch Saugen an

einem seitlichen Ansatz des Rohres auf eine bestimmte Marke eingestellt worden. Nach Absorption der Restkohlensäure steigt nun das Quecksilber um einen gewissen Betrag, und aus der Differenz läßt sich unter Berücksichtigung des Blattvolumens die Menge der assimilierten Kohlensäure berechnen. Die Absorption sieht man nach 12 stündigem Stehen als beendigt an. Es ist klar, daß diese Methode nur Annäherungswerte geben kann.

Auf die quantitativen Methoden der Gasanalyse kommen wir bei Behandlung der Atmungsmethodik zu sprechen; es ist selbstverständlich, daß man diese Methoden auch zur Bestimmung des Gaswechsels bei der Assimilation verwenden kann. Dort, wo es, wie bei *Demonstrationen*, erwünscht ist, *Barometerablesungen*, *Rechnungen usw. zu vermeiden*, liefert der Apparat (Fig. 45) von Winkler-Hempel befriedigende Werte: Das zylindrische Gefäß *J*, welches die assimilierenden Blätter enthält, ist mit Luft gefüllt, die beiläufig 8 % CO_2 führt. Dieser Betrag, welcher innerhalb gewisser Grenzen schwanken kann, muß vor Beginn des Versuches genau festgestellt sein. Das gebogene Rohr *t* dient dazu, um eine Probe des Gases in dem Gefäß *J* zu entnehmen, und wenn sie entnommen ist, fließt Wasser durch die Röhre *l* aus dem außerhalb stehenden Glas *o* in das eprouvettenartige innen befindliche Behältnis *i*. Die Röhren *t* und *l* werden jetzt geschlossen und die Versuchsanordnung 4—5 Stunden hellem Lichte ausgesetzt, worauf eine neue Gasprobe entnommen und analysiert wird. Das eingeführte Wasser absorbiert wohl etwas von der Kohlensäure und bewirkt einen Fehler, welcher aber speziell für Demonstrationszwecke nicht schwer wiegt. Für die Bestimmung *kleiner Gasquantitäten*, die von Wasserpflanzen abgegeben werden, etwa 0,5 ccm und weniger, leistet Timiriazeffs *Mikro-Eudiometer* (Fig. 44) gute Dienste. Der Apparat besteht aus drei Teilen, dem Eudiometer *E*, der Pipette *P* und dem Überträgerrohr *C*. Das Eudiometer ist eine Röhre von 5 mm innerem Durchmesser und in $^1/_{100}$ ccm geteilt. Das obere Ende ist durch ein 25 mm langes Stück Gummischlauch verschlossen, durch welchen eine Glasstange *R* gesteckt ist, die als Kolben dient. Das untere Ende von *E* ist zu einem kleinen Trichter *F* erweitert, um das Eintreten des zu analysierenden Gases zu erleichtern. Der Überträger *C* besteht aus einem gleichmäßig zylindrischen Glasrohr von 10 mm Durchmessser, 20 mm Höhe und zirka 1 ccm Volumen, welches an die Glasstange *X* als Halter angeschmolzen ist. *C* wird mit Wasser gefüllt und so befestigt, daß sich die von der Pflanze aufsteigenden Gasblasen darin sammeln. Dieses Gas wird dann unter Verschluß mit dem Daumen in ein Gefäß mit Wasser übertragen, in dem *E* aufgestellt ist, worauf man es in den Trichter *F* am unteren Ende von *E* aufsteigen läßt. Der Trichter steht mit dem graduierten Teil des Rohres durch eine kapillare Einschnürung in Verbindung, so daß das übertragene Gas in dem Trichter verbleibt, bis es durch Aufdrehen des Glaskolbens *R* in das Eudiometer hineingezogen wird. Wenn das Gas an der Einteilung *E* gemessen worden ist, wird der Stempel *R* wieder eingedrückt und die Gasblasen so wieder in den Trichter *F* zurückgetrieben. Die Pipette *P*

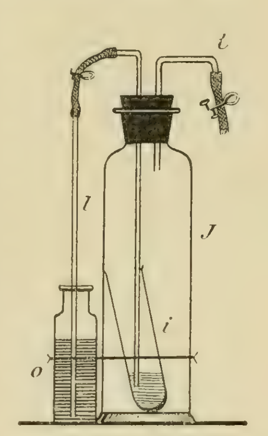


Fig. 45. Apparat von Winkler-Hempel.

ist zu einer Birne bei *B* erweitert und endet in eine gebogene Kapillarröhre, die in den Trichter des Eudiometers eingeführt werden kann. So läßt sich das Gas aus dem Trichter durch Ausziehen des Pipettenstempels *S* von *P* in die Pipette hineinziehen (Fig. 47). Zur Bestimmung von Sauerstoff enthält die Pipette frischbereitete Lösung von Pyrogallol. Nach 2—3 Minuten wird das Gas in den Trichter zurückgebracht, durch den Stempel des Eudiometers in dieses hineingezogen und sein Volumen von neuem bestimmt. Der Unterschied zwischen der ersten und der zweiten Eudiometerablesung ergibt den Betrag des durch Pyrogallol absorbierten Sauerstoffs. Die ganze Operation kann so schnell durchgeführt sein, daß keine Korrekturen für Änderung von Barometerstand oder Temperatur anzubringen sind. Auf die Assimilation übt die *Lichtfarbe* einen Einfluß. Wir brauchen bloß einen Elodeasproß unter Glasglocken aus verschiedenfarbigem Glas zu setzen, um zu erkennen, daß die Zahl der Gasblasen in gelbem Lichte größer ist als in blauem, daß also die Assimilation im schwächer brechbaren Teil des Spektrums am intensivsten vor sich geht (Fig. 46 und 47). Zur *Erzeugung verschiedenfarbigen Lichtes* können wir als Sturz im einfachsten Fall eine Kiste mit herausgenommenen und durch Glasplatten ersetzten Holzboden und -wänden benutzen, welche Glasplatten mit gefärbter Gelatinfolie beklebt sind, wobei man aber durch schwarze Papierstreifen an den Rändern dafür sorgen muß, daß die Einstrahlung weißen Lichtes unterbleibt. Oder aber man stellt die Pflanzen geradezu unter Stürze aus gefärbtem Glas. Sehr häufig gebraucht sind die Senebierschen Glocken mit Doppelwandung, deren Zwischenraum mit einer Lösung von Kaliumbichromat zur Erzeugung schwächer brechbaren, hauptsächlich gelben Lichtes oder mit einer Lösung von Kupferoxydammoniak gefüllt ist, das vornehmlich blaue und violette Strahlen durchläßt. Um ultrarotes Licht zu erzeugen, verwendet man eine gesättigte Auflösung von Jod in Schwefelkohlenstoff. Aber abgesehen davon, daß die Glocken schwer, gewöhnlich klein, unhandlich und relativ kostspielig sind, ist es bei halbwegs unvollkommenem Verschluß der Glocke möglich, daß Dämpfe des Lösungsmittels mit der Pflanze in Berührung kommen. Die Senebierschen Glocken sind ferner naturgemäß sehr lichtschwach, da doch eine verhältnismäßig dicke Schicht der absorbierenden Flüssigkeit verwendet werden muß, aber der wesentlichste Nachteil der genannten, im Laboratorium meistens verwandten Lösungen, beruht darauf, daß durch sie nicht nur eine Strahlengattung, sondern mehrere, im Extrem alle, nur mehr oder minder stark absorbiert, durchgelassen werden, woraus bedeutende Beobachtungsfehler resultieren. Um monochromatisches Licht zu haben, verwendet man „Strahlenfilter", durchsichtige, gefärbte Medien, welche von dem gemischten weißen Licht den größeren Teil absorbieren, homogenes Licht von einer bestimmten Farbe aber durchlassen. Für höhere Pflanzen ist die ideale Methode zur Erzeugung monochromatischen Lichtes, die spektrale Zerlegung durch ein Prisma oder die Verwendung monochromatischer Flammen ausgeschlossen, weil es, abgesehen von der Schwäche des so erzeugten Lichtes, unmöglich ist, eine größere Fläche damit zu bestrahlen. Ein absolut monochromatisches Licht ist aber freilich durch Strahlenfilter auch nicht zu erhalten, es werden immer Lichtarten verschiedener Wellenlänge durchgelassen, daher können sie nur in solchen Fällen verwendet werden, wo es nicht darauf ankommt, Licht einer einzigen Wellenlänge zu erzeugen,

was übrigens auch bei der spektralen Zerlegung nicht vollkommen realisiert und auch nicht nötig zu sein pflegt. Für Rot wird zu diesem Zweck gewöhnlich das rote Rubinglas verwendet, zur Erzeugung von Blau, da es keine monochromatischen blauen Gläser gibt, die Lösung von schwefelsaurem Kupferoxydammoniak. Nagel[1]) hat eine ganze Reihe von *Rezepten zur Herstellung gefärbter Lichtabsorptionsflüssigkeiten* gegeben, Lösungen, welche aus gebräuchlichen Reagenzien des Laboratoriums rasch und bequem herzustellen sind und sich, in verschlossenen Flaschen aufbewahrt, mindestens wochenlang halten. Die Farbenkombinationen sind so gewählt, daß die Substanzen sich in einem einzigen Trog mischen lassen, ohne Niederschläge zu geben; sie können also mit Sicherheit in doppelwandigen Glasglocken zur Verwendung kommen. Dort, wo es sich um Erzeugung eines genau bestimmten einfarbigen Lichtes handelt, führt man die Mischung stets unter Kontrolle mit einem Spektroskop her, was rascher und bequemer geht, als wenn man die Substanzen vorher genau abwägen wollte. Die nun folgende Beschreibung ist genau dem Original entnommen:

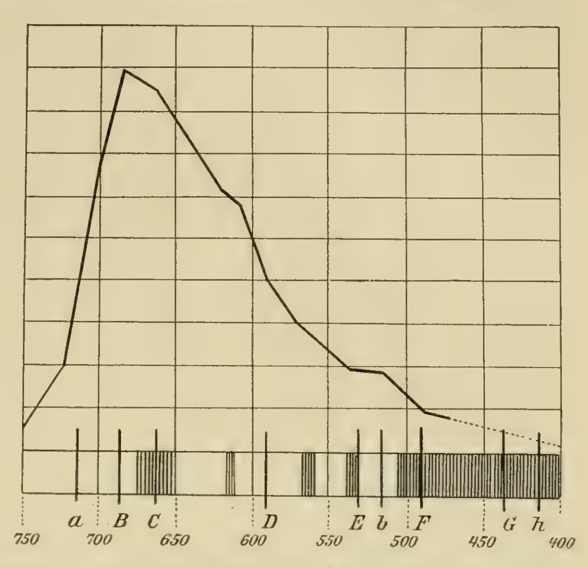


Fig. 46. Assimilationskurve nach Reinke über dem Absorptionsspektrum lebender Blätter. Das Maximum der ausgeschiedenen Glasblasen liegt im schwächer brechbaren Spektralanteil zwischen den Linien *BC*, während in der folgenden Fig. 47, der Engelmannschen Kurve des aufgenommenen CO_2 (gestrichelt) und abgegebenen O_2 (punktiert) unter diesem Maximum noch ein zweites in der blauen Spektralhälfte bei *F* liegt.

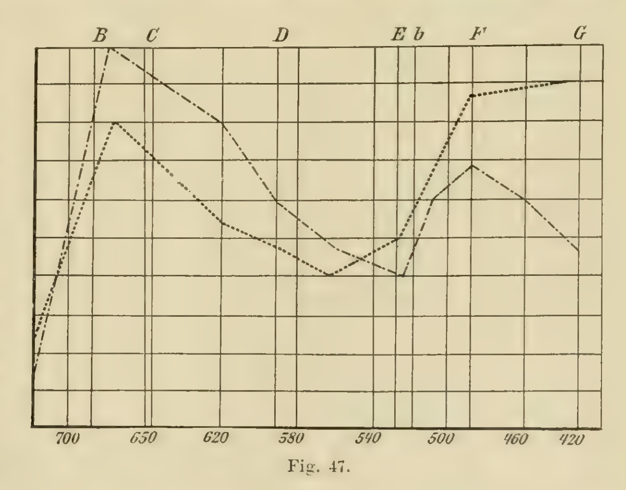


Fig. 47.

Rot: Die roten Überfanggläser (Rubingläser), die in sehr verschiedenen Nuancen hergestellt werden, verkürzen das rote Spektralende wenig oder gar nicht. Gegen die kürzerwellige Seite erstreckt sich der durchgelassene Bezirk bei den helleren Sorten bis nahe zur Linie *D*, bei den dunkleren bis in die Mitte zwischen

[1]) W. A. Nagel, Über flüssige Strahlenfilter, Biolog. Zentralbl. 18, 649 (1898).

C und D. Für photographische Zwecke wird eine Glassorte hergestellt, die aus blaßblauem Kobaltglas mit rotem Überfang besteht; sie absorbiert die orangefarbigen Strahlen ebenso wie das gewöhnliche Rubinglas, welches aber merklich stärkere Nuance besitzt. Bei gleich großem durchgelassenem Spektralbezirk ist das Rot bei den genannten Gläsern etwas lichtstärker als bei den gewöhnlichen, allerdings noch lange nicht so lichtstark wie bei einigen flüssigen Strahlenfiltern. Es gibt rote Flüssigkeiten, die bei gleichem Umfange des durchgelassenen Spektralbezirkes heller erscheinen als die Rubinscheiben. Als besonders verwendbar sind die Karmin- und Cochenillefarben bekannt; am besten eignet sich die für mikroskopische Färbungen beliebte Lithionkarminlösung, die schon in 1 mm dicker Schicht reines Rot liefert, in $1/2$ mm dicker Schicht Rot mit einem Teile des Orange. Stellt man eine Verdünnung dieser Lösung her, welche nach dem bloßen Augenschein einer gewöhnlichen Rubinglasscheibe mittlerer Helligkeit vollkommen gleicht, so findet man spektroskopisch nur Rot, kein Orange wie bei jener, das Rot aber dafür ganz erheblich heller.

Orange: Eine Flüssigkeit einheitlicher Art, welche nur Orange durchläßt, ist nicht bekannt. Die Lösung des Anilinfarbstoffes Orange läßt auch Rot durch, die orangefarbige Lösung von Kaliumbichromat bei 1 cm Schichtdicke Rot, Orange, Gelb, Gelbgrün. Ein monochromatisches Orange läßt sich dagegen durch Mischung gewinnen. Zu einer Flüssigkeit, die nur rote und orangefarbene Strahlen durchläßt, zu wässeriger Safraninlösung, setzt man Kupferazetat, welches Rot absorbiert. Am besten bereitet man eine nicht ganz gesättigte Lösung von Kupferazetat, setzt ein paar Tropfen Essigsäure zu und alsdann tropfenweise so viel starke Saffraninlösung, bis das Spektroskop das reine Gelb ausgelöscht zeigt. Der sichtbare Streifen beginnt dann etwa bei der Linie C und endigt bei D, hell erscheint aber nur das eigentliche Orange, etwa von der Wellenlänge 640—600 $\mu\mu$. Die Schichtdicke kann, wenn man das Kupfersalz konzentriert nimmt, ein wenig unter 1 cm heruntergehen. Die Lichtstärke dieses Strahlenfilters ist ein wenig geringer als die eines rein roten, durch Lithionkarmin gebildeten.

Gelb: Ein Strahlenfilter herzustellen, das nur Gelb durchläßt, ist deshalb ganz besonders schwer, weil das Gelb von allen Farben im Spektrum weitaus den kleinsten Bezirk einnimmt und sogleich in Orange und Gelbgrün übergeht. Es ist bis jetzt unmöglich, eine Kombination zu finden, die das Gelb annähernd rein und doch in seiner Intensität wenig abgeschwächt gibt. Will man dagegen einen schmalen orangegelben und einen ebensolchen grüngelben Saum mitnehmen, also etwa die Region 620—570 $\mu\mu$, so ist ein derartiges Strahlenfilter leicht herzustellen, auch ohne daß man, wie Landolt tut, drei Tröge hintereinanderschaltet. Man kommt mit einer einzigen Schicht von 1 cm Dicke aus. Zu diesem Zweck löscht man wiederum durch gesättigte saure Kupferazetatlösung das Rot und die rötere Hälfte des Orange aus, alsdann durch Einträufeln gesättigter wässeriger (mit Essigsäure versetzter) Lösung von Orange G (Grübler) die ganze stärker brechbare Seite bis auf einen Rest des Gelbgrün. Die so erhaltene Lösung sieht braun aus und ist etwa ebenso hell wie die orangefarbene; sie hält sich nicht lange.

Grüngelb und gelbgrün: Diese Farben lassen sich isoliert

mit solcher Lichtstärke herstellen wie keine andere Farbe. Kombination von Kupferazetat und Kaliumbichromat dabei wird verwendet. Am besten kocht man in einer mit Essigsäure angesäuerten gesättigten Lösung von Kaliumbichromat Kristalle des Kupfersalzes im Überschuß. Nach dem Erkalten filtriert man. Das Kupferazetat absorbiert das Rot und fast alles Orange, einen schmalen Teil des letzteren sowie das reine Gelb sieht man ganz dunkel, dann aber das Grüngelb intensiv hell, von 580 μμ an etwa bis 530, oder bei dickerer Schicht (1,2—1,5 cm) bis 560 μμ. Statt des Bichromats kann man auch Pikrinsäure verwenden und bei deren Kombination mit Kupferazetat den Spektralbezirk 580—520 sehr lichtstark erhalten (Schichtdicke 1 cm). Ein haltbares Gelbfilter hat E. Pringsheim [1]) in Methylorange gefunden, welches ein dem Kaliumbichromat sehr ähnliches Absorptionsspektrum besitzt. Erprobt man unter spektroskopischer Prüfung die hellste, bei der gewählten Schichtdicke gerade noch bis zum Grün absorbierende Lösung, so erscheint das durchfallende Licht fürs Auge noch sehr hell. Noch bequemer aber sind für die meisten Zwecke gelbgefärbte Gelatineplatten: man reinigt möglichst weiße Glasplatten, z. B. von alten photographischen Platten, mit einer Lösung von Kaliumbichromat in konzentrierter Schwefelsäure, spült sie unter der Wasserleitung und läßt sie, mit der zu beschickenden Fläche nach unten schräg auf Fließpapier gestellt, trocknen. Jedes Stäubchen ist auf der späteren Schichtseite zu vermeiden, auch bedingt die gründliche Reinigung, besonders von Fett, das Haften der Gelatineschicht. Nun löse man in einer beinahe gesättigten, tiefrotbraunen, filtrierten Lösung des Farbstoffes in destilliertem Wasser etwa 20 % Gelatine und filtriert die dicke Flüssigkeit im Dampftopf oder Heißwassertrichter. Dazu kommt auf 100 ccm ein Tropfen Glyzerin, um eine zu große Sprödigkeit der getrockneten Schicht zu vermeiden, die sonst, besonders bei größerer Dicke, leicht abspringt, und außerdem etwa 0,1 g Borsäure, um das Wachstum von Schimmelpilzen zu verhindern, da Methylorange kaum giftig ist. Borsäure ist zu schwach sauer, um Rotfärbung zu bewirken, zu viel darf es aber nicht sein, weil sie sonst beim Trocknen auskristallisiert. Andere Antiseptica wie $ZnSO_4$ und $HgCl_2$ bewirken schon in geringerer Konzentration Trübung der Schicht. Die gereinigten Platten werden auf eine größere, mit der Wasserwage horizontal gestellte Glasplatte gelegt und in einiger Entfernung darüber, zur Abhaltung von Staub während des Erstarrens, eine große Glasplatte angebracht. Die Gelatinelösung wird auf die Mitte der Platten gegossen und durch Neigen oder Nachhelfen mit einem Glasstabe für Bedeckung der Fläche gesorgt, was sich unschwer bewirken läßt. Die Lösung muß heiß sein, damit sie nicht vor der gleichmäßigen Ausbreitung auf der nun horizontal gelegten Platte erstarrt. Sollte das nicht ganz gelungen sein, so läßt sich durch vorsichtiges Anwärmen auf einer heißen Asbestplatte der Fehler meist wieder gut machen. Ist die Gelatine erstarrt, so werden die Platten wieder schräg mit der Schichtseite nach unten an einem möglichst staubfreien Orte getrocknet und sind mit seltenen Ausnahmen so klar und gleichmäßig, daß sie z. B. das Lesen von kleinen Buchstaben

[1]) E. Pringsheim, Über die Herstellung von Gelbfiltern und ihre Verwendung zu Versuchen mit lichtreizbaren Organismen. Ber. d. d. bot. Ges. 26 a, 558 (1908).

durch sie hindurch nicht erschweren. Da dünne Schichten wesentlich leichter herzustellen sind, ist es zweckmäßig, zwei solcher Platten mit dünner Schicht aufeinandergelegt und mit schwarzem Rand zusammengeklebt oder auch mit Kanadabalsam auf der ganzen Fläche verkittet zu verwenden. Die Absorptionsstärke ist abhängig von der Konzentration der Farbstofflösung, dem Prozentgehalt an Gelatine und der teilweise davon abhängenden Stärke des Aufgusses.

Grün: Läßt man in der Mischung von Kupferazetat mit Pikrinsäure oder Kaliumbichromat die erstgenannte Substanz sich in möglichst großer Menge auflösen, während der andere Mischungsbestandteil in einer zur Sättigung nicht hinreichenden Menge vorhanden ist, so kann man ein das gesamte Grün durchlassendes Strahlenfilter herstellen, bzw. von diesem durch Hinzufügen von Pikrinsäure oder Kaliumbichromat vom blaugrünen Ende her beliebige Stücke abschneiden. Solche Strahlenfilter sind sehr lichtstark.

Reines Grün ohne Gelbgrün erhält man durch Kombination der gesättigten Lösung von Kaliummonochromat mit Cuprammoniumsulfat. Letzteres wird in gesättigter Lösung mit reichlichem Ammoniaküberschuß verwendet und der Chromatlösung tropfenweise zugefügt, bis das ganze Rot, Orange, Gelb und Gelbgrün ausgelöscht ist. Das durchgelassene Licht ist etwa 535—495 $\mu\mu$. Die Mischung kann schon in 0,7 cm dicker Schicht verwendet werden, ist aber nicht so hell wie die Gelbgrün-Mischungen. Will man den blaugrünen Anteil der Strahlen entfernen, also nur 535—510 durchlassen, so braucht man nur zu der letztgenannten Mischung einige Tropfen einer schwach alkalisch gemachten wässerigen Lösung von Fluoreszin zuzusetzen, welche Blaugrün absorbiert.

Blaugrün und Cyanblau: Diese Farben werden von Methylgrün und Jodgrün in dünnen Lösungen durchgelassen, daneben auch noch das äußerste Rot. Dies entfernt man durch Kupferazetat. Am besten tropft man starke Methylgrünlösung in die sauer gemachte Kupferlösung. Der durchgelassene Bezirk ist etwa 500—460 $\mu\mu$.

Cyanblau: Ein reines und sehr lichtstarkes Blau, vorzugsweise die weniger brechbaren Teile des gesamten Blau erhält man, wenn man vor die letzterwähnte Mischung entweder einen zweiten Trog mit einer schwachen Lösung von Kaliumpermanganat bringt oder ihr einige Tropfen Gentianaviolett direkt zusetzt. Diese beiden Medien absorbieren das Grün, lassen aber Blau durch. Bei Verwendung des übermangansauren Kali hat man den Vorteil einer scharfen Grenze am Blaugrün, so daß der durchgelassene Bezirk sich auf 486—460 $\mu\mu$ einengen läßt. Das Gentianaviolett gibt am Blaugrün eine sehr unscharfe Grenze. Mit dieser Mischung scheidet man daher besser den Bezirk 460—430 $\mu\mu$ aus, der auch recht lichtstark gemacht werden kann, wenn auch nicht so hell wie bei der Kombination mit dem Permanganat.

Blau und Violett: Cuprammoniumsulfat läßt bekanntlich Blau und Violett durch. Den Bezirk 470—410 $\mu\mu$ kann man dadurch leicht ausscheiden. Hinzufügung eines zweiten Troges mit dünner Lösung von Kaliumpermanganat gibt ein reines Violett.

Baar (l. c.) verwendet zu seinen Versuchen über die Abhängigkeit der Samenkeimung vom Lichte die Nagelschen Flüssigkeiten, welche in nach dem Prinzip der Senebierschen Glocken konstruierte Petrischalen eingefüllt werden, welche Gefäße mit den Samen beschickt

wurden. Eine Fehlerquelle besteht darin, daß die Lichtintensität in den verschiedenen Spektralbezirken nicht gleich ist. Zur *genauen Bestimmung der Intensität des verwendeten verschiedenfarbigen Lichtes* bedienten sich Kniep und Minder[1]) bei ihren wichtigen Untersuchungen der *thermoelektrischen Methode*, deren Prinzip folgendes ist: Eine Thermosäule, welche mit einem empfindlichen Galvanometer verbunden ist, wird mit dem auf seine assimilatorische Wirkung zu untersuchenden Lichte bestrahlt und darauf der Ausschlag des Galvanometers abgelesen. Damit der Galvanometerausschlag wirklich als Maß der Lichtenergie dienen kann, ist zweierlei nötig: erstens müssen natürlich die Wärmestrahlen ausgeschaltet sein. Das ist leicht erreichbar durch Einschalten einer Wasserschicht zwischen Lichtquelle und Thermosäule. Zweitens müssen die beleuchteten Lötstellen der Thermosäule berußt sein. Ruß ist das ideale Absorptionsmittel für Lichtstrahlen, d. h. der Verlust, also diejenige Energie, die nicht in Wärme umgesetzt wird, ist prozentual so gering, daß sie praktisch völlig vernachlässigt werden kann. Die verwendete Rubenssche Thermosäule erzeugt bei Temperaturerhöhung um 1 ^{0} C eine elektromotorische Kraft von 0,00 106 Volt. Die Größe der mit der Thermosäule gerade noch meßbaren Temperaturerhöhung hängt auch mit der Empfindlichkeit des Galvanometers zusammen. In Verbindung mit einem Panzergalvanometer von 5 Ohm innerem Widerstand, das für 1 Mikroampère einen Ausschlag von 3600′ gibt (Skala in 1 m Entfernung), sind mit der Rubensschen Thermosäule noch Temperaturerhöhungen von weniger als ein milliontel Grad zu messen. Zur Abhaltung von störenden Luftströmen wurde die vordere Öffnung des Trichters, durch welchen die Strahlen eintreten, mit einer dünnen Glaslamelle bedeckt; die Drahtverbindungen wurden da, wo sich zwei verschiedene Metalle berühren, zur Verhinderung von Sekundärströmen dicht mit Wolle umwickelt. Zur Unterbrechung des Stromes wird ein Quecksilberunterbrecher verwendet. Die Leitungsdrähte müssen während der Beobachtung völlig ruhig liegen, da schon geringe Bewegung derselben Induktionsströme erzeugt, welche das Resultat der Ablesung trüben können. Das verwendete Deprez-d'Arsonvalsche Drehspulengalvanometer bietet den großen Vorteil, bei hoher Empfindlichkeit von äußeren magnetischen Störungen sehr unabhängig zu sein. Es wurde der Galvanometerausschlag bestimmt, der entsteht, wenn die Thermosäule von dem Lichte einer in 1 m Entfernung stehenden Hefner-Normalkerze bestrahlt wurde, und damit ein absolutes Maß für die Ablesungen gewonnen. Als Farbenfilter wurden die farbigen Gläser der Firma Schott & Co., Jena, benutzt, welche die bestimmten Spektralbezirke in relativ großer Lichtstärke durchlassen. Die Rotscheibe trägt die Fabriksbezeichnung f 4512, die Blauscheibe f 3873, sie sind 2,5 mm dick und 9,2 × 9,2 cm groß. Die qualitative Untersuchung der Lichtfilter auf ihre Farbendurchlässigkeit führte zu folgenden Ergebnissen: Die Rotscheibe läßt durch: Licht von $\lambda = 620\ \mu\mu$ bis Ultrarot, Licht von $\lambda = 608\ \mu\mu$ bis 620 $\mu\mu$ wird ganz schwach durchgelassen. Die Blauscheibe läßt durch: Licht von

[1]) H. Kniep und F. Minder, Über die Einfluß verschiedenfarbigen Lichtes auf die Kohlensäureassimilation, Zeitschr. f. Bot. 1, 630 (1909). Die Forscher messen die Intensität der Kohlensäureassimilation mit der Gasblasenzählmethode und ihre Erfahrungen mit derselben (S. 635) bieten manches Interessante.

$\lambda = 523{,}8$ μμ bis Ultraviolett; im intensiven Licht der Mittagsonne sieht man im Spektrum noch ein schwaches Band im Hellgrün zwischen D und E und ein sehr schwaches um Rot bei B. Die Nagelsche Grünlösung läßt durch: Licht von $\lambda = 512$ μμ bis 524 μμ. Die quantitative Untersuchung ergab: (D = Durchlässigkeitskoëffizient für 1mm Glasdicke, d. h. das Verhältnis der durch eine Glasplatte von 1 mm Dicke durchgelassenen Lichtenergie (Ed) zur auffallenden (Ea):

Rotfilter:	λ in μμ	644	578	546	509
	D =	0,94	0,05	0,02	0,00

Blaufilter:	λ in μμ	546	509	480	436	405	384	361	340	332
	D =	0,00	0,18	0,50	0,73	0,69	0,59	0,36	0,10	0,00

Da bei einer Glasdicke x nur noch D^x-Bruchteile der Lichtenergie durchgehen, müssen wir die Werte von D in die 2,5 te Potenz erheben und gelangen so zu folgenden Durchlässigkeitskoëffizienten:

Rotscheibe:	λ in μμ	644	578	546	509
	$D^{2,5}$ =	0,846	0,00056	0,000057	0,000

Blauscheibe:	λ in μμ	546	509	480	436	405	384	361	340	332
	$D^{2,5}$ =	0,00	0,0109	0,177	0,455	0,395	0,267	0,078	0,010	0,000

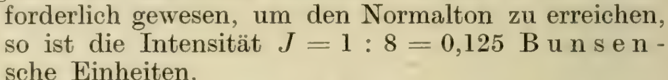
Es zeigte sich in den Versuchen, daß bei etwa auf das gleiche Niveau abgeglichenen Lichtintensitäten die Assimilationsgröße im roten und blauen Lichte keine erheblichen Verschiedenheiten aufweist, sie ist in beiden Fällen ungefähr gleich groß, in Blau höchstens etwas geringer. Im normalen Spektrum des direkten Sonnenlichtes findet aber die stärkste Assimilation im Einklang mit früheren Befunden im langwelligen Teile statt; dort ist auch die Intensität stets größer als im blauen Spektralanteil, während im diffusen Tageslicht die blauen Strahlen ihrer absoluten Intensität nach vorwiegen.

Noch viel zu wenig berücksichtigt bei pflanzenphysiologischen Arbeiten ist die *Notwendigkeit, Lichtintensitäten genau zu bestimmen;* in der Regel begnügte man sich mit approximativen Helligkeitsabschätzungen, wie Südfenster, Nordfenster, sehr hell, dunkel usw., ohne darauf Rücksicht zu nehmen, worauf schon Sachs hingewiesen hat, daß unser Auge und die Pflanze zu verschiedenartige Reagenzien dem Lichte gegenüber vorstellen, als daß man beide in Parallele setzen dürfte. Wohl besitzen wir in den verschiedenen Photometern Meßinstrumente, welche die Lichtstärke mit großer Genauigkeit zu bestimmen gestatten, aber einerseits sind es meist künstliche Lichtquellen, mit denen man in diesen Fällen allein arbeiten kann, anderseits fehlt die Einfachheit der Handhabung und die Notwendigkeit, ein Instrumentarium mit sich zu nehmen, stört vielfach, namentlich bei Beobachtungen im Freien. Das Verdienst, hier eine *zweckmäßige Methodik* ausgearbeitet zu haben, gebührt J. Wiesner. Dieser Forscher bildete die von Bunsen und Roscoe für lichtklimatische Untersuchungen erfundene, allerdings sehr komplizierte und schwer zu handhabende photographische, aber für unsere Zwecke sehr geeignete Methode zu einem eleganten physiologischen Lichtmeßverfahren um. Die zahlreichen Kautelen der ursprünglichen Methode von Bunsen-Roscoe und die zahlreichen hier notwendigen Operationen sind in der Hand Mindergeübter ebenso viele Fehlerquellen, so daß die Wiesnersche Methodik, wiewohl ungleich einfacher und, theoretisch gesprochen, weniger exakt, doch sogar geringere Fehlergrenzen liefert als das ursprüngliche Verfahren. Die Wiesnersche Methode dient natürlich

als photographische Methode nur dazu, die sogenannte chemische Lichtintensität zu ermitteln, also jene Lichtstärke, welche von den stark lichtbrechenden, den sogenannten chemischen Lichtstrahlen (blau, violett, ultraviolett) ausgeht. Innerhalb gewisser Grenzen der Tagesbeleuchtung läßt sich aber die Methode auch zur Ermittlung der gesamten Lichtstärke verwenden. Das Bunsen-Roscoesche Verfahren besteht darin, daß man auf ein in bestimmter Weise bereitetes photographisches Papier (Normalpapier) Licht einwirken läßt, wobei die eintretende Färbung des Papiers unter Berücksichtigung der erforderlichen Zeit mit einem konstanten Farbenton (Normalton, Normalschwärze) verglichen wurde. Die Intensitätsberechnung beruht auf dem Gesetz, daß gleiche Schwärzungen des Normalpapiers gleichen Produkten aus Beleuchtungsdauer (t, t') und chemischer Lichtintensität (J, J') entsprechen, mathematisch ausgedrückt: $Jt = J't'$ bei gleicher Schwärzung des Normalpapiers. Die Proportion $J : J' = t' : t$ sagt also, daß für gleiche Schwärzungen des Normalpapiers sich die zur Geltung kommenden Lichtintensitäten umgekehrt wie die zur Hervorbringung dieser Schwärzung erforderlichen Zeiten verhalten. Für die Herstellung des Normalpapiers wird für photographische Zwecke verwendetes Papier (am besten das sogenannte 8-Kilo-Rivespapier) mit einer dreiprozentigen Kochsalzlösung einige Minuten durchtränken gelassen und das gesalzene, lufttrocken gewordene Papier bei möglichstem Ausschluß chemisch wirkenden Lichtes auf einer zwölfprozentigen Lösung von Silbernitrat zwei Minuten hindurch schwimmen gelassen, worauf man es in der photographischen Dunkelkammer trocknet. Auch in schwachem Gaslicht, das an chemischen Strahlen sehr arm ist, kann das Trocknen vorgenommen werden. Die Empfindlichkeit des Papiers bleibt ungeändert, mag es 15″—18′ mit der Silberlösung in Berührung gewesen sein; der Prozentgehalt des Silberbades darf nicht kleiner als 8 und nicht größer als 12 sein. Die Herstellung der Normalschwärze ist nicht ganz leicht. Die Normalschwärze ist ein inniges Gemisch von 1000 Gewichtsteilen chemisch reinen Zinkoxyds mit einem Teil reinster Rußkohle. Die Normalschwärze, ein graues, feines Pulver, wird durch gelöste Gelatine gebunden und als Deckfarbe auf weißen, dünnen Karton aufgetragen. Dieser so erhaltene Normalton wird auch als Einserton bezeichnet. Die Lichtintensität, welche imstande ist, auf dem Normalpapier die Farbe des Normaltones im Zeitraume einer Sekunde hervorzurufen, wird = 1 gesetzt (in Wien ist die Intensität des gesamten Tageslichtes zur Mittagszeit bei unbedecktem Himmel in den ersten Tagen des Mai = 1). Der Normalton, auf dessen sorgfältige Herstellung natürlich viel ankommt, hat eine bestimmte, beiläufig als Taubengrau zu bezeichnende Farbe. Mit den 900 Farbentönen der bekannten internationalen Raddeschen Farbentafel verglichen, stimmt er mit keinem einzigen dieser Farbentöne völlig überein, kommt aber jenem Farbenton sehr nahe, der dort mit: „20 Blau, erster Übergang in Violett u“ bezeichnet ist; dieser Ton ist etwas tiefer als der Normalton und entspricht dem Werte 1,3.

Zur Auffindung der Lichtstärke nach Wiesners Verfahren, welches, wie erwähnt, nicht nur die höchste Bequemlichkeit der Handhabung bietet, sondern trotzdem sogar exaktere Werte liefert als das umständliche, zahlreiche Versuchsfehlerquellen in sich schließende Originalverfahren von Bunsen-Roscoe, welches also diesem

gegenüber eigentlich eine ganz neue Methode vorstellt, benötigt man außer dem Normalpapier und dem Normalton nur eines höchst einfachen, aus einem Holzbrettchen hergestellten Handinsolators (Fig. 48) und einer passend eingerichteten Sekundenstoppuhr. In den Insolator wird ein Streifen des Normaltones hineingeschoben und daneben mit der nötigen Vorsicht ein Streifen des Normalpapieres, das man so lange bedeckt halten muß, bis die Bestimmung beginnt. Man bringt den Insolator in die erforderliche Lage, stellt denselben z. B. bei Bestimmung des gesamten Tageslichtes horizontal, setzt die Uhr in Gang und läßt das Licht solange einwirken, bis auf dem Normalpapier die Farbe des Normaltones erreicht ist, worauf die Uhr abgestoppt wird. Aus der Zeit, welche von Beginn bis Schluß der Bestimmung verflossen ist, ermittelt man die Intensität, indem man die Zahl Eins durch die Zahl der zur Färbung erforderlich gewesenen Sekunden dividiert. Waren z. B. 8″ erforderlich gewesen, um den Normalton zu erreichen, so ist die Intensität $J = 1 : 8 = 0{,}125$ Bunsensche Einheiten.



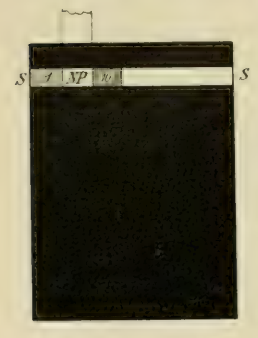
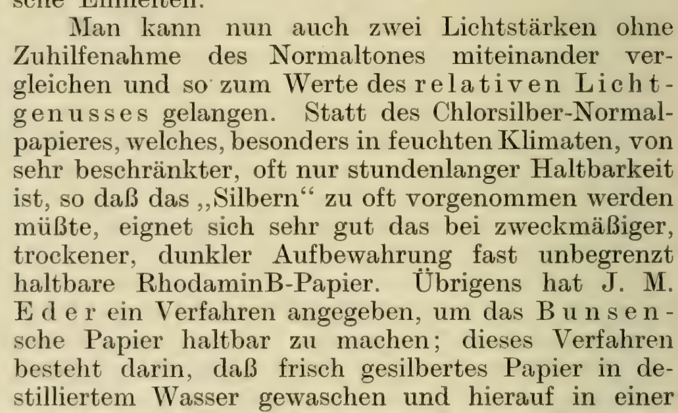


Fig. 48. Wiesners Insolator. *NP* = Normalpapier; *S* = Gelbscheibe; 1,10 = Einserton und Zehnerton.

Man kann nun auch zwei Lichtstärken ohne Zuhilfenahme des Normaltones miteinander vergleichen und so zum Werte des relativen Lichtgenusses gelangen. Statt des Chlorsilber-Normalpapieres, welches, besonders in feuchten Klimaten, von sehr beschränkter, oft nur stundenlanger Haltbarkeit ist, so daß das „Silbern“ zu oft vorgenommen werden müßte, eignet sich sehr gut das bei zweckmäßiger, trockener, dunkler Aufbewahrung fast unbegrenzt haltbare RhodaminB-Papier. Übrigens hat J. M. Eder ein Verfahren angegeben, um das Bunsensche Papier haltbar zu machen; dieses Verfahren besteht darin, daß frisch gesilbertes Papier in destilliertem Wasser gewaschen und hierauf in einer Lösung von Kalinitrit (1 : 20 H_2O) fünf Minuten lang untergetaucht gehalten wird. Schließlich wird dieses Papier getrocknet (alle Operationen in der Dunkelkammer). Das Edersche Papier ist nicht ganz so lichtempfindlich wie das Bunsensche, nämlich im Verhältnis 1 : 0,84, so daß man vorher die Relation des haltbar gemachten zum Originalpapier ein für allemal feststellen muß. Das Rhodamin-B-Papier, welches das ganze leuchtende Spektrum, mit Ausnahme des äußersten Rot, photographisch wiedergibt, wird folgendermaßen hergestellt: Man badet photographisches Rohpapier fünf Minuten lang in einer Auflösung von 61 g Bromkali in 1000 g Wasser und trocknet es an der Luft, indem man die einzelnen Stücke vertikal aufhängt. Darauf sensibilisiert man bei rubinrotem Licht durch Schwimmenlassen des trockenen Papiers auf einer zwölfprozentigen Silbernitratlösung durch zwei Minuten. (In diesem Stadium liegt das Maximum der Empfindlichkeit zwischen den Fraunhoferschen Linien *F* und *G*.) Hierauf wässert man, ohne das Papier vorher zu trocknen, alle löslichen Salze aus. Die gewässerten Papiere badet man nunmehr fünf Minuten in einer Lösung aus 220 ccm Wasser, 6 g Natriumnitrat, 5 ccm einer alkoholischen Lösung von Rhodamin-B im Verhältnis 1 : 200 und trocknet im Dunkeln, indem man die einzelnen Stücke in Klammern wiederum vertikal aufhängt.



Um nun den *relativen Lichtgenuß* zu bestimmen, geht man folgendermaßen vor: Ein Streifen a des Normalpapiers wird in horizontaler Lage der Einwirkung des gesamten Tageslichtes ausgesetzt, zu gleicher Zeit wird ebensolange ein zweiter Streifen b an der Pflanze oder an einer bestimmten Stelle der Pflanze in der für den Versuch erforderlichen Lage (z. B. an einem in fixer Lichtlage befindlichen Blatte auf der Oberfläche desselben) befestigt. Man erhält auf diese Weise zwei Streifen a, b von ungleicher Färbung, deren Nuancierung aber zu gleicher Zeit erfolgt ist, so daß man aus ihren Färbungen das Verhältnis der Lichtstärken an den Vergleichspunkten bestimmen kann. Man bringt sie unter Ausschluß störenden Lichtes nebeneinander in den Insolator und legt einen frischen Streifen Normalpapier daneben. Nun stellt man den Insolator in diffusem Tageslicht in der Nähe eines Fensters auf und wartet, bis das frische Normalpapier die Färbung der beiden gefärbten Streifen angenommen hat. Da aber diese beiden Färbungen während der im Licht vorgenommenen Bestimmung sich ändern, so schiebt man nach und nach die unter der schwarzen Hülle des Insolators befindlichen Streifen ins Licht, bis eine frisch hervorgezogene Partie der Streifen genau die Färbung angenommen hat, die auf dem frischen Streifen entstanden ist. Wenn z. B. 75″ verfließen, bis der frische Streifen die Farbe von a und 25″, bis er die Farbe von b angenommen hat, so verhält sich die Stärke des gesamten Tageslichtes zu der an der betreffenden Stelle der Pflanze herrschenden wie 75 : 25 = 3 : 1. Die Pflanze erhält also dann ein Drittel der gesamten chemischen Intensität des vollen Tageslichtes, ihr relativer Lichtgenuß ist $\frac{1}{3}$. Da sich aber während der Bestimmung die Intensität des Lichtes ändern kann, wiederholt man die Bestimmung des Zeitwertes für b so lange, bis der Zeitwert für a erreicht ist, und nimmt aus diesen Werten das Mittel. Erhält man z. B. für a den Wert 75″, für b in aufeinanderfolgenden Bestimmungen die Werte 24″, 26″, 25″ (Mittel 25″), so ist dieser Mittelwert mit dem für a erhaltenen Werte in Vergleich zu setzen. Je höher die Lichtintensität, desto schwerer ist es, mit Hilfe des bloßen Einsertons die Stärke des Lichtes zu bestimmen, schon für Intensität = 1 tritt bei Benutzung dieses Tons die Farbe auf dem Normalpapier schon nach einer Sekunde ein; die Intensität des gesamten Tageslichtes steigt aber meist weit über Eins. Wiesner stellt daher auch höhere Töne ein. Belichtet man bei der Intensität 1 nicht eine, sondern n Sekunden, so kann man aus der erhaltenen Färbung die Lichtstärke ableiten, wenn man n durch die zur Erreichung dieser Färbung erforderliche Zeit dividiert. Zum Kopieren dieser Farbentöne verwendet Wiesner die lichtbeständigen Lefrancschen Farben. Durch Mischung von Schwarz, Blau und etwas Kobalt werden auf Papier Färbungen erhalten, die mit den auf Normalpapier photographisch entstehenden übereinstimmen. Es ist sehr schwierig, Skalentöne zu erhalten, die in trockenem Zustande genau einem Zweier-, Dreierton usw. entsprechen. Aber es läßt sich durch Vergleich mit dem Einserton der Tonwert stets sicher bestimmen. Wenn z. B. bei einer bestimmten Lichtintensität 5″ erforderlich sind, damit auf dem Normalpapier der Einserton zum Vorschein kommt, und wenn 33″ nötig sind, damit auf dem Normalpapier ein seinem Wert nach zu bestimmender Farbenton entstehe, so ist dieser Skalenton gleich 6,6. Um mit Zuhilfenahme dieses Skalentones die

Lichtintensität zu erhalten, muß ich 6,6 durch die Zahl der Sekunden dividieren, welche erforderlich waren, um auf dem Normalpapier diesen Skalenton hervorzubringen, womit die Lichtintensität im Bunsenschen Maße ausgedrückt wird. Zur Bestimmung des *direkten Sonnenlichtes* geht Wiesner folgendermaßen vor: Man richtet bei Sonnenschein den ordnungsmäßig adjustierten Insolator so, daß er von der vollen Sonne in horizontaler Lage getroffen wird. Nun bestimmt man die Zeit, welche verfließen muß, damit auf dem Normalpapier der Einserton oder ein bestimmter Skalenton erscheint. Nun wendet sich der Beobachter um 180 ^{0}, so daß er die Sonne genau im Rücken hat und der Insolator vom Schatten des Kopfes bedeckt ist. Dann wird die Zeit bestimmt, welche nötig ist, damit auf dem beschatteten Normalpapier der Normalton 1 oder ein bestimmter Skalenton erscheint. Die hierbei erhaltenen Zeiten sind der Intensität des Gesamtlichtes Jg, bzw. der Intensität des diffusen Lichtes Jd umgekehrt proportional. Angenommen es wären 8 Sekunden erforderlich gewesen, damit bei Sonnenbeleuchtung der Einserton erreicht wird, und 27 Sekunden, damit dieser Ton im Kopfschatten erzeugt werde, so ist $Jg = 1 : 8 = 0{,}125$; $Jd = 1 : 27 = 0{,}037$, mithin die Intensität des direkten Sonnenlichtes $Js = Jg - Jd = 0{,}088$. Die Wiesnersche Methode ist mit einem mittleren Fehler von $\pm$ 4 % und einem wahrscheinlichen Fehler von $\pm$ 2,5 % behaftet. Um die Übereinstimmung des Normaltones mit der im Lichte eintretenden Färbung, namentlich im Umfang, deutlich wahrzunehmen, tut der Anfänger gut, bei der Bestimmung den Insolator mit einem gelben Glase zu überdecken, welches chemisch wirksame Strahlen nicht in einem Maße durchläßt, daß der Farbenton erhöht wird. Dieses Überdecken darf natürlich nur Bruchteile einer Sekunde hindurch geschehen, da ja währenddessen die Bestimmung unterbrochen ist. Ist der Ton noch nicht erreicht, so entfernt man das Glas und fährt in der Bestimmung fort; das hat auch den weiteren Vorteil, daß man keine Störung durch die Nuancenverschiedenheit im Skalenton und erreichten Belichtungston zu befürchten braucht; die Farbennuancen beider weichen nämlich trotz gleicher Farbenhöhe oft voneinander ab, durch Überdecken mit dem gelben Glase verschwindet aber die Farbennuance, und es bleibt nur (bei beiden) ein graubräunlicher Farbenton, die Farbenhöhe, zurück.

Außer den gesilberten Papieren kann man Kalibichromatpapier (Kreußler) und Kalimonochromatpapier (Kießling) verwenden, welches letztere in der Weise hergestellt wird, daß man das Papier durch drei Minuten in einer Lösung von 50 g einfach chromsauren Kalis in 1000 g H_2O untergetaucht hält und im Dunkeln trocknet. Es hat eine sehr geringe Empfindlichkeit und kann mit Vorteil dort verwendet werden, wo es sich um langdauernde Bestimmungen handelt, z. B. um Bestimmung von Tageslichtsummen. Die Relation der Lichtempfindlichkeit des Kalimonochromatpapiers zum Silberpapier ist beiläufig 1 : 31, d. h. die mit Chromatpapier erhaltenen Intensitätswerte sind mit 31 zu multiplizieren, wenn sie auf Bunsensche Lichteinheiten gebracht werden sollen. Da die wichtigsten physiologischen Prozesse, in erster Linie Kohlensäureassimilation und Chlorophyllbildung, durch die sogenannten chemischen Strahlen, also den stärker brechbaren Anteil des Spektrums weniger gefördert zu werden scheinen als durch die roten Strahlen, so ist die Wiesnersche Methode für diese Prozesse

nur indirekt von Wert, indem sie näherungsweise auch einen Schluß auf die Stärke des Gesamtlichtes zuläßt, sie ist aber direkt verwendbar beim Studium der Vorgänge der Wachstumsregulierung usw. Wenn z. B. die chemische, mit Silberpapier gemessene Intensität des gesamten Tageslichtes 1,225 betrüge und ich fände, daß eine Pflanze auf ihrem Standort gleichzeitig einer Lichtstärke = 0,245 ausgesetzt ist, so gilt dieses Verhältnis $0{,}245 : 1{,}225 = \frac{1}{5}$ nicht nur für die chemischen Strahlen, sondern angenähert auch für alle anderen Bezirke des Spektrums. Während man z. B. mittels des Bolometers in der Lage ist, die Intensität des Lichtes mit Berücksichtigung aller Strahlengattungen zu messen, mißt man beispielsweise mit dem Weberschen Photometer für Tageslichtmessungen auch nur einen bestimmten Anteil von Rot und Grün, um daraus auf die Gesamthelligkeit zu schließen. In ähnlicher Weise mißt der Pflanzenphysiologe einen anderen Teil des Spektrums, nämlich Blau-Violett-Ultraviolett, und schließt aus dem erhaltenen Intensitätswert auf die gesamte Lichtstärke. Nach Hann gelingt es, auch den Lichtgenuß einer bestimmten Pflanze aus den photometrischen Bestimmungen rechnungsmäßig in Kalorien auszudrücken. Das mittlere Lichtgenuß-Minimum für Poa annua ist im März in Wien $= \frac{1}{3}$, in Kairo $= \frac{1}{11}$. Zur Zeit, wenn in Wien derselbe mittägliche Sonnenstand erreicht ist wie in Kairo anfangs März, d. i. in Wien Mitte April, ist für diese Pflanze hier das mittlere Lichtgenuß-Minimum $= \frac{1}{7}$. Geht man von den von Angot mit den Transmissionskoëffizienten 0,7 berechneten relativen Werten der täglichen Wärmestrahlung aus, so erhält man durch graphische Interpolation und Reduktion auf Langleys Solarkonstante von 3 Kalorien pro Kubikzentimeter und Minute: Wärmemenge, welche die Sonne an einem ganz heiteren Tage anfangs März in Kairo zur Erde schickt: 586 Kalorien, in Wien gleichzeitig 326 Kalorien. Für Mitte April ist diese Wärmemenge unter 48° n. Br. 676 Kalorien. Daher ist für Poa anfangs März in Kairo das Lichtgenuß-Minimum = 53,2 Kalorien, in Wien = 108,6 Kalorien; anfangs April dagegen in Wien 92,2 Kalorien, d. h. es muß in Wien zu einer Zeit, in welcher der mittägliche Sonnenstand dem von Kairo gleicht, wegen der in unseren Breiten herrschenden Temperatur, für das Gedeihen von Poa — und das gilt natürlich für alle Pflanzen — eine höhere Lichtintensität herrschen. Also je niedriger die umgebende Temperatur ist, desto mehr Licht muß die betreffende Pflanze empfangen.

Um bei Verwendung von Bunsen-Ederpapier die damit erhaltenen Werte auf Bunsenwerte umzurechnen, geht man vonfolgender Überlegung aus: Neben einen Skalenton legt man links einen Streifen des Bunsen-Ederpapieres, rechts einen von Bunsens Normalpapier und exponiert zu gleicher Zeit dem diffusen Tageslicht. Zur Erreichung des Normaltones sei bei Bunsenpapier ein Zeitraum von 14 Sekunden, beim B-Ederpapier ein solcher von 10 Sekunden notwendig. Die daraus berechneten Intensitäten sind dann $JBN = \frac{1}{14} = 0{,}071$ respektiv $JBE = \frac{1}{10} = 0{,}1$; die berechneten Intensitäten ver-

halten sich also 0.071 : 0,1 = x : 1, daher ist x = 0,71 der Intensitätsfaktor, der bei käuflichem Bunsen-Ederpapier auf dem Umschlag des betreffenden Paketes angegeben ist. Mit diesem Faktor muß man jeden Intensitätswert multiplizieren. Es sei die Zeit, in welcher auf Bunsen-Ederpapier der Skalenton 2,5 erreicht wird, 14″, die Intensität somit im Bunsenwert 2,5 : 14 = 0,178; ist der Relationsfaktor nun 0,7, so ist die Intensität in Bunsen-Ederschem Wert 0,178 · 0,7 = 0,125. Einige der Wiesnerschen Skalentöne (2,63, 5,53 und 12,22) sind ebenso wie der Einserton von der Firma R. Lechner, Wien, unter Kontrolle hergestellt und käuflich zu haben; bei schwachem, diffusem Licht empfiehlt sich der niedrige Skalenton 2,6, bei starkem Sonnenlicht der hohe 12,5.

Den Nachteil des einfachen Wiesnerschen Insolators, welcher infolge Kürze seiner Papierstreifen nur wenige Bestimmungen hintereinander durchzuführen gestattet, vermeidet der von V. Vouk konstruierte, mit dem *ohne Unterbrechung auch 400 Bestimmungen* durchgeführt werden können (Fig. 49). Es ist ein schwarz adjustiertes Kästchen (Länge 8 cm, Breite 4 cm, Höhe 4 cm), in dem sich zwei Spulen befinden, wovon die eine mit zirka 4 m langem und 1 cm breitem Bunsen-Ederpapier versehen ist. Der Schlüssel A besorgt beim Linksdrehen die Einstellung des Papieres und beim Rechtsdrehen das Einfüllen neuer Spulen. B ist eine Platte, die fest und lichtdicht am Kästchen sitzt, und die beim Einsetzen neuer Spulen abgehoben wird. C ist die Spule 1, auf der das lichtempfindliche Papier aufgewickelt ist, D die Spule 2, auf die das belichtete Papier durch Linksdrehen des Schlüssels aufgewickelt wird. E ist ein kleiner Reiber, mit welchem die dünne Metallplatte, unter der die entsprechenden Skalentöne links und rechts vom Papier eingelegt werden, befestigt ist. F ist eine gelbe Glasscheibe, die sich in einem Geleise frei bewegen kann. Man hält den Insolator in der linken Hand horizontal, wobei das gelbe Glas auf den Skalentönen ruht, in der rechten Hand hält man die Stoppuhr, die im Momente der Exposition in Gang gesetzt wird, wobei gleichzeitig die Glasscheibe durch Schiefstellung des Insolators von den Papieren abgleitet; dann stellt man sofort wieder horizontal, wobei die Scheibe sich nicht bewegt, im Momente der Beendigung neigt man zur anderen Seite, wodurch die Scheibe wieder über die Papiere gleitet; gleichzeitig stoppt man den Chronometer. Gleichzeitig mit der Verzeichnung der Lichtintensität sollte man auch die Bewölkung registrieren. S_0 bedeutet, daß die Stelle, wo die Sonne am Himmel steht, nicht erkennbar ist, bei S_1 bildet die Sonne am Himmel einen hellen Schein, S_2, die Sonne ist als helle Scheibe zu sehen; S_3, Sonne leicht umflort; S_4 völlig

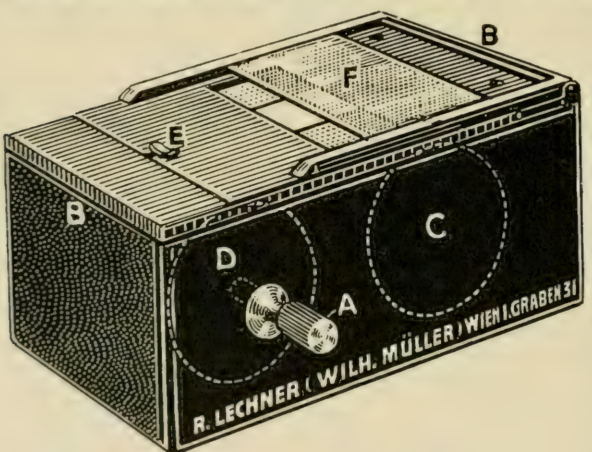


Fig. 49. Vouks Insolatorkästchen.

unbedeckt. B_0 bedeutet völlig unbedeckten Himmel; B_1, B_2—B_{10}, daß der Himmel zu $^1/_{10}$, $^2/_{10}$ usw. völlig mit Wolken bedeckt ist. Bei der Lichtbestimmung hat man also zu notieren: Datum, Stunde, Sonne, Bewölkung, Jg (Gesamtintensität), Jd (Intensität des diffusen Lichtes), $Js = Jg - Jd$. Für *kontinuierliche Lichtmessungen* haben Samec und Jencic ein selbstregistrierendes Photometer konstruiert. In einem Holzkasten der Dimensionen 16 × 11 × 7,2 cm befindet sich ein Laufwerk, das mit Ankergang eine Achse treibt, auf welcher eine in 300 Teile geteilte Scheibe steckt. Diese trägt beim Teilstrich 0 einen 0,15 cm langen vorspringenden Zapfen und einen auf der Scheibenachse beliebig verstellbaren, in einen Zapfen auslaufenden Zeiger. Die Umlaufzeit der Scheibe beträgt zirka 5 Minuten und könnte bei Bedarf durch Beeinflussung eines entsprechenden Mechanismus variiert werden. Bei der Rotation der geteilten Scheibe wird durch den Zapfen ein Anker ausgelöst, der durch eine Feder gegen ein vierzahniges Zahnrad gedrückt wird. Jetzt rotiert dieses, getrieben durch eine im Gehäuse untergebrachte Feder samt einer mit ihm auf der gleichen Achse sitzenden Trommel um 90° und schiebt dabei das in der Trommel eingeklemmte lichtempfindliche Papier um ein bestimmtes Maß fort, wodurch es exponiert wird. Die Expositionszeit beträgt je nach der Einstellung 3 Sekunden bis 5 Minuten. Der 7 m lange Papierstreifen ist auf einer Rolle aufgerollt und läuft über eine Brücke, die sich im Deckel des Apparates in der Form eines Spaltes befindet. Der Papierstreifen zeigt nach der Exposition zweierlei belichtete Felder, die durch unbelichtete schmale Streifen voneinander getrennt sind. Die während der fast fünf Minuten langen Expositionszeiten freiliegenden Papierteile bekommen bei gewöhnlichen Lichtverhältnissen derartig starke Lichteindrücke, daß sie für die Verarbeitung der Messungen wertlos sind. Die kurz belichteten Felder zeigen die Eindrücke des Gesamtlichtes (Sonne und diffuses Licht) und die des diffusen Lichtes allein in dem von den besonderen am Rande des Deckelspaltes angebrachten Stifte erzeugten Schatten.

Für physiologische Bestimmungen ist die Kenntnis des Lichtgenusses von Wichtigkeit. So hat Wiesner beispielsweise gezeigt, daß die charakteristischen Erscheinungen des Etiolements nicht erst dann eintreten, wenn die Pflanze bei *Ausschluß* von Licht gezogen wird, sondern sich auch dann schon zeigen, wenn sie unterhalb des Minimums ihres Lichtgenusses zu wachsen gezwungen ist. Den Abweichungen der Gestalt entsprechen natürlich Änderungen in der inneren Ausbildung. Bei Pflanzen, die auf hohe Lichtintensitäten angewiesen sind, beginnen auch die Erscheinungen des Etiolements bei relativ hohen Lichtstärken. Als „Lichtgenuß“ einer Pflanze bezeichnet Wiesner das Verhältnis der Lichtmenge, welche einer Pflanze an ihrem natürlichen oder künstlichem Standorte zufließt, zur Stärke des gesamten Tageslichtes. Bedeutet erstere i, letztere J, so ist $L = \frac{i}{J}$, also der Lichtempfang der Pflanze (denn von dem empfangenen Lichte wird ja ein beträchtlicher Teil nicht ausgenutzt). Wenn in dem Ausdrucke $\frac{i}{J}$ der Wert für $i = 1$ eingesetzt wird, so ist das Resultat $\frac{1}{J}$ der relative Lichtgenuß, das Verhältnis der Lichtstärke, welche auf die Pflanze einwirkt, zur Lichtstärke des Himmels. Die Lichtstärke in einheitlichem Maße

(im Tönen des Normalpapieres) ausgedrückt, gibt den absoluten Lichtgenuß. Der relative Lichtgenuß ist eine veränderliche Größe, schon der unmittelbare Anblick lehrt beispielsweise, daß Bellis perennis im Frühling einen viel größeren Anteil des gesamten Tageslichtes für sich in Anspruch nimmt (sie blüht auf frei exponierten Stellen) als im Sommer (sie sucht beschattete Stellen auf). Je größer die Spannungsweite zwischen Maximum und Minimum des Lichtgenusses ist, je mehr Licht also die Pflanze verträgt und mit je weniger sie auskommt, desto weiter sind ihre vom Lichte beeinflußten Existenzmöglichkeiten. So kommen Gräser noch bei $\frac{1}{70}$, in den Tropen bei $\frac{1}{100}$ des Gesamtlichtes fort, Dactylis glomerata besitzt einen Lichtgenuß von $1 - \frac{1}{52}$, Taraxacum officinale $1 - \frac{1}{12}$, Capsella bursa pastoris $1 - \frac{1}{10}$, Buche $1 - \frac{1}{85}$, Eiche $1 - \frac{1}{26}$, Lärche $1 - \frac{1}{3}$. Bezüglich ganzer Reihen solcher Bestimmungen und Verwertungen des Lichtmessungsverfahrens in der pflanzenphysiologischen Analyse muß auf Wiesners[1]) Buch verwiesen werden.

Für manche Versuche ist es auch von Interesse, nicht nur die Intensität, sondern auch die *Richtung des stärksten diffusen Lichtes* zu kennen. Dazu dient das Wiesnersche *Skioklisimeter* (Fig. 50), mittels welchen aus der Lage des Schattens die Richtung des stärksten diffusen Lichtes in einem bestimmten Lichtareal festgestellt werden kann. Das Skioklisimeter besteht aus einer 6,5 cm langen, 6 cm breiten Metalltafel, welche oben mit einem rein- und mattweißen, dünnen Karton bedeckt ist, der am Rande der Tafel der Länge nach, rechts und links von je einem 1 cm breiten Metallstreifen festgehalten wird. An diesen beiden Metallstreifen befindet sich eine Millimeterteilung. Über dem Nullpunkte der Teilung befindet sich in einer bestimmten Höhe ein mattgeschwärzter Draht, der genau parallel zur Tafelfläche zu liegen kommt. Durch rechtwinklige Abbiegung der beiden Metallenden und Einfügung derselben in die Metallplatte wird die Fixierung des schattenwerfenden Drahtteiles besorgt. Dieser gebogene Draht ist so am Apparat angebracht, daß seine Achse genau 1 cm über die Fläche des Kartons zu liegen kommt, und die abgebogenen Drahtteile sind so gestellt, daß ihre Achsen in die beiden Nullpunkte der Teilung einschneiden. Bei der Ablesung der Höhe hat man die Mitte des Schattens, entsprechend der Achse des schattenwerfenden Drahtes, zu wählen.

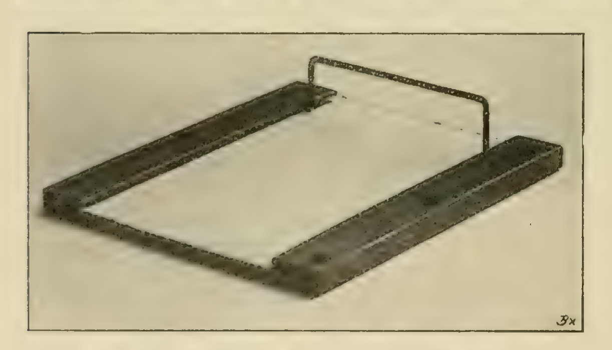


Fig. 50. Wiesners Skioklisimeter. (V. Vouk).

Dem Millimeterstrich entspricht ein bestimmter Höhenwinkel, der

[1]) J. Wiesner, Der Lichtgenuß der Pflanze. Leipzig 1907.

sich leicht aus der Höhe des Drahtes über der Projektionsfläche und aus der Entfernung des Schattens vom Anfangspunkte der Teilung durch die Tangentenformel logarithmisch berechnen läßt. Die folgende Tabelle gibt eine Reihe solcher Werte, zwischen die sich auch noch die für halbe Millimeter interpolieren ließen:

Millimeterstrich	Approximative Höhe in Graden	Millimeterstrich	Höhe in Graden	Millimeterstrich	Höhe	Millimeterstrich	Höhe
0	90	7	55	14	35	20	26
1	84	8	51	15	33	25	21
2	78	9	48	16	32	30	18
3	73	10	45	17	30	35	16
4	68	11	42	18	29	40	14
5	63	12	40	19	27	45	12
6	59	13	37	—	—	50	11

Beim Gebrauche des Skioklisimeters wird der schattenwerfende Draht quer zur Lichtfläche gestellt und die Entfernung der Mittellinie des Schattens vom Nullpunkt der Millimeterteilung festgestellt. Fällt beispielsweise die Schattenmitte zwischen die Teilstriche 14 und 15, so wird die Höhe, in welcher die intensivsten Strahlen sich befinden, approximativ 34 ^{0} betragen. Die Bestimmung des stärksten diffusen Lichtes ist um so sicherer, je kleiner das zu prüfende Lichtareal ist. Durch das Skioklisimeter kann beispielsweise der euphotometrische Charakter der Blätter in bequemer Weise ermittelt werden. Man sucht den Schatten im diffusen Lichte auf, welcher die Höhe der stärksten diffusen Beleuchtung angibt und dreht an der Vorderkante des Apparates dessen Projektionsfläche, d. i. jene Fläche, welche den Schatten aufzunehmen bestimmt ist, so lange empor, bis der dreiteilige, schattenwerfende Stab des Apparates mit dem Schatten in eine Ebene fällt. Die Neigung dieser Fläche steht senkrecht auf der Richtung des stärksten diffusen Lichtes und die Lage des Blattes muß, wenn es euphotometrisch ist, mit jener der gesuchten Neigung übereinstimmen.

Die Kohlensäureassimilation erfolgt bekanntlich nur im Lichte, und zwar bei hinreichender Lichtstärke ebenso wie die Chlorophyllbildung (nur wenige Pflanzenarten ergrünen, wie die Koniferen, auch im Dunkeln). Das ist auch der Grund, weshalb man bei allzu geringer Lichtintensität, z. B. des Winters, bei Elodea auch im Lichte keine Gasblasen aufsteigen sieht. Ob die Assimilation, wie Stoklasa will, mit Hilfe von in Entstehung begriffenem Kalikarbonat erfolgt, ist bisher noch strittig, Tatsache aber ist, daß während der Assimilation von Wasserpflanzen im Lichte Phenolphthaleinlösung, die der Nährlösung zugesetzt wird, sich rötet, während die Rötung im Dunkeln ausbleibt, bzw. verschwindet. Diese Erscheinung kann ebensogut darauf bezogen werden, daß das während der Assimilation wirksame Kalikarbonat nach seiner Fertigstellung, nachdem es also unwirksam geworden ist, ausgestoßen wird und so jene Rötung verursacht, wie darauf, daß während der Assimilation vornehmlich Anionen der Nährlösung entnommen werden, während die Phenolphthalein rötenden Kationen zurückbleiben. Die Nichtausbildung des Chlorophyllfarbstoffes im Dunkeln und die damit im Zusammenhang stehende Unverwertbarkeit der Kohlensäure bringen eine der

heterotrophen Lebensweise analoge Ernährungsweise der Pflanze aus ihren Reservestoffen und damit eine von der Norm der im Lichte wachsenden Pflanze völlig verschiedene Ausbildungsform ihrer Teile hervor, welchen Gesamtkomplex wir als „Etiolement" bezeichnen. Er ist im wesentlichen, abgesehen von der wachsgelben oder schwachgrünen (bei nicht vollständigem Dunkel) Farbe der Pflanze durch die Überverlängerung des Sprosses und abnormes Kleinbleiben der Blätter charakterisiert (Fig. 51 u. 52). Da die Pflanze in diesem Stadium ausschließlich von den Reservestoffen lebt, hat es also den Anschein, als ob diese wesentlich dem Stengel und nur in unbedeutendem Maße den Blättern zugute kämen, während im Lichte umgekehrt eine Hemmung im Wachstum des Stammes und eine Förderung im Wachstum der Blätter sich einstellt, sowie die Assimilation eintritt. Schneidet man die Vegetationsspitze des Stengels ab und verschmiert sie etwa mit Gips, so kann man, Kultur im Lichte vorausgesetzt, ein abnormes Großwerden der Blattflächen bei der Bohne beobachten, während im Dunkeln die Blätter trotzdem zurückbleiben. Übrigens muß das Wachstum und die Organbildung im Dunkeln durchaus nicht so lange vor sich gehen, als noch Reservestoffe vorhanden sind, wie sich das bei der Bohne vollzieht, sondern die Pflanze kann, wie das beim Kürbis der Fall ist, zugrunde gehen, auch wenn die Kotyledonen noch beträchtliche Mengen Reservesubstanz enthalten, ein Beweis, daß die Ausschaltung des Lichtes nicht nur einfach eine Ausschaltung der Kohlensäureassimilation zur Folge hat, sondern überhaupt tiefgreifende Störungen im Stoffwechsel der Pflanze bewirkt. Es kommt eben nicht nur auf Zufuhr von Nahrung überhaupt, sondern auf geeignete Bildungsstoffe an. Sachs führte folgenden Versuch durch. Statt Keimpflanzen aus Samen im Finstern erwachsen zu lassen, wurden die Knospen reichbelaubter Pflanzen derart in einen finsteren Raum eingeführt, daß die daraus hervorgehenden Sprosse sich in diesem entwickeln mußten, während ihnen von den zahlreichen großen, vom Lichte getroffenen Laubblättern Assimilationsprodukte zuflossen. Aus der in den lichtdichten Kasten eingeführten Gipfelknospe von Kürbis entwickelten sich nicht nur



Fig. 51. Bohnenkeimlinge, links normale Lichtpflanze, rechts etiolierte Dunkelpflanze. (O. Richter).

zahlreiche Blätter, Ranken, neue Sprosse, sondern auch eine große Frucht. Schließlich wurde der Raum für den wachsenden Sproß im Kasten zu eng und die kräftige Endknospe durch ein im Dach des Kastens hergestelltes Loch aus diesem wieder hinausgeschoben. Die reichlich gebildeten Blätter innerhalb des Kastens waren rein gelb, unbedeutend kleiner als die grünen, normal außerhalb des Kastens im Licht gebildeten; die den etiolierten von außen durch Assimilation zugeführten Bildungsstoffe haben für die normale Entwicklung der unter Lichtabschluß sich entwickelnden Blätter gesorgt. Die Laubblätter sind, wie es scheint, in ihrem Wachstum immer vom Lichte abhängig, indem dieses ein übermäßiges Längenwachstum zurückhält, die Breitenausdehnung begünstigt. Die Internodien dagegen werden vom Lichte in ihrer Streckung entweder fast vollständig gehindert (Kartoffel) oder doch in ihrem Längenwachstum stark zurückgehalten oder schließlich übt das Licht einen unmerklichen Einfluß auf ihre Verlängerung aus. Es gibt Blätter, welche im normalen Verlauf sich im Dunkeln, unter der Umhüllung älterer Blätter stark verlängern; bei solchen Blättern bewirkt das Etiolement eine starke Verlängerung und das Licht eine Hemmung des Wachstums. Bei Zea, Triticum, Crocus, Iris, Hyacinthus, Tulipa, Allium Cepa sind die Blätter schon weit herangewachsen, wenn ihre Spitze aus den umhüllenden Scheiden hervor an das Tageslicht zu treten beginnt, die weitere Streckung findet dann vorzugsweise an den unteren, noch verhüllten Teilen statt, so daß also das Längenwachstum, auch wenn die Pflanze im Freien steht, im Finstern sich vollzieht; erst die an das Licht gebrachten oberen Teile breiten sich vollständig aus; die definitive Breite und Flächenentfaltung wird durch das Licht bestimmt. Läßt man die Blätter dieser Pflanzen im Finstern wachsen, so wird dadurch die Längenstreckung der Blätter befördert, die Ausbreitung der hervorgeschobenen Lamina gehindert, die Blätter sind also einerseits zu lang, anderseits fehlt ihnen die definitive Form; die Crocusblätter werden im Finstern bis 30 cm lang, im Lichte nur 10 cm, dagegen im Finstern nur $^1/_3$ so breit, ein Unterschied, der sich aber bei ans Licht gestellten etiolierten Blättern in wenigen Tagen ausgleicht. Die Blätter von Phaseolus, Tropaeolum, Humulus, Bryonia, Solanum sind noch sehr klein und zart, wenn sie an die Oberfläche der Knospe hervortreten und dem Lichte ausgesetzt werden. Die Blätter von Humulus Lupulus kommen mit 10—15 mm ans Licht und unter dessen Einfluß wird der Mittelnerv 80—90 mm lang; im Finstern erwachsene Sprosse



Fig. 52. Etiolement bei Zea Mays, links normal ergrünte, rechts etiolierte, wachsgelb gebliebene, verlängerte Pflanze. (O. Richter.)

entwickeln ihre gelben Blätter bis 10—12 mm Länge und hören dann auf, sich zu vergrößern, während eine bedeutende Vergrößerung gleichzeitig mit Ergrünen sich am Lichte einstellt. Bei Phaseolus multiflorus hatte die Lamina der über den Boden emportretenden Primordialblätter 15—16 mm Länge, im Dunkeln, während im Lichte der Mittelnerv der Blätter 62—64 mm maß; die größte Breite der grünen betrug 55—65 mm, die der etiolierten 28—34 mm. Eine verhältnismäßig bedeutende Größe erreichen die Blätter von im Finstern austreibenden Rüben bei Beta vulgaris. Umgekehrt liegen die Verhältnisse bei der Streckung der Internodien. Das hypokotyle Stengelglied der etiolierten Keimpflanzen von Polygonum fagopyrum kann eine Höhe von 35—40 cm erreichen, während es im Freien, wo der obere Teil bald ans Licht gelangt, 2—3 cm hoch wird. Das Hypokotyl von Cucurbita Pepo erreicht bei etiolierenden Keimpflanzen eine Länge von 40—50 cm über dem Boden, bei genügendem Lichte nur 3—4 cm. Bei Brassica Napus sind diese Verhältnisse 16 cm respektiv 2—3 cm. Bei der Bohne bleiben die Kotyledonen bis zur völligen Ausnutzung der Reservestoffe am Stengel, indem sie dabei immer mehr verrunzeln. Dann fallen sie ab und erst jetzt erhalten die Primordialblätter ihre letzte Dehnung. Die Keimung der Bohne bietet äußerlich folgendes Bild dar: zuerst vorwiegend Wurzelbildung, dann vorwiegend Streckung und Ausbildung der schon vorhandenen Stengelteile des Keimes, endlich der Übergang zur selbständigen Vegetation durch Vollendung des Wurzelsystems und völligen Verbrauch der Reservenahrung. Das Ende des Keimstadiums ist physiologisch durch den Moment bezeichnet, in welchem die Kotyledonen völlig entleert sind. Das Minimum der Keimungstemperatur liegt bei der Bohne gewiß unterhalb 8 ^{0}, aber wahrscheinlich oberhalb 7 ^{0}. Hält aber eine solche Temperatur länger an, dann verdirbt der schon hervorgetretene Keim, er wird abnorm, indem die Hauptwurzel sich nicht weiter verlängert und Nebenwurzeln zu einer Zeit ausbrechen, wo die Plumula noch lange nicht die für dieses Stadium normale Größe erreicht hat. Das Maximum der Keimungstemperatur liegt bei 35 ^{0} R, aber hier findet keine normale Keimung mehr statt; das Optimum liegt bei 21 ^{0}. Im Dunkeln erreicht das erste, vollständig gestreckte Stengelglied die Länge von 15—20 cm, bei einer Temperatur von 20—25 ^{0} aber bis zu 40—45 cm, während es sich im Lichte nur bis zu 10 cm erhebt. Der Oberteil dieses Gliedes behält lange Zeit sein embryonales Aussehen im Dunkeln und die Nutation, die Primordialblätter bleiben klein und zusammengefaltet, die Streckung des Blattstieles findet nur in äußerst geringem Ausmaße statt; zu einer Zeit, wo das zweite Stengelglied sich schon zu einer Länge von 5—6 cm gestreckt hat, bleiben die Primordialblätter noch zusammengefaltet. Dieses Unterbleiben von Entfaltung und Streckung ist übrigens nicht bei allen etiolierten Pflanzenarten zu beobachten: beim Mais z. B. findet die Entwicklung der Blätter im Dunkeln in gleicher Weise statt wie im Lichte und nur die gelbe Farbe unterscheidet die Dunkelblätter von den im Lichte erwachsenen. Etiolierte Keime von Phaseolus, dem Lichte ausgesetzt, werden je nach der Intensität des Lichtes und der Höhe der Temperatur in 2—3 Tagen grün, und zwar erfolgt das Grünwerden zuerst in der Nähe der großen Nerven; allzu langes Verweilen im Dunkeln kann auch bewirken, daß Partien der etiolierten Blätter im Licht nicht mehr ergrünen, sondern gelb bleiben und absterben, respektive es kann längere Zeit dauern,

bis das Ergrünen eintritt. Zuerst werden jedenfalls bei jeder Pflanze die jüngsten Teile grün, was besonders deutlich bei Maiskeimen zu sehen ist, wo die Spitzen der zu lange im Dunkeln gehaltenen Blätter zu ergrünen nicht mehr imstande sind, während die jüngeren Teile desselben Blattes ebenso wie die später entstandenen noch gerollten Blätter schnell grün werden.

Bricht man einem trockenen Keim der Bohne beide Kotyledonen ab und steckt solche Keime in feuchte Erde, so wachsen sie nur sehr wenig, etwa 2 cm, heran, die Primordialblätter werden wohl grün, entfalten sich aber nicht. Ganz anders ist es, wenn man nur einen Kotyledo abbricht: dann keimt die Pflanze schnell und wächst so wie eine normale, aber sie bleibt schwächlich und alle Teile kleiner. Halbiert man die Kotyledonen ohne die Keimwurzel zu beschädigen, so keimt sie normal und liefert eine zwar kleine, aber doch gesunde und wachstumsfähige Pflanze. Läßt man mehrere Bohnen gleicher Größe in demselben Boden keimen und schneidet zur selben Zeit, ohne den zarten Stengel zu verletzen, beide Kotyledonen ab, so bemerkt man schon am nächsten Tage Verlangsamung bis Wachstumsstillstand bei den operierten Keimlingen, was mehrere Tage anhält; dann erholen sie sich wieder und wachsen gesund weiter; aber die Pflanzen behalten längere Zeit ein zwergartiges sehr zierliches Aussehen, alle Teile sind kleiner, aber sonst normal. Je jünger die Keimlinge der Operation unterzogen werden, desto störender macht sich deren Einfluß geltend, desto längere Zeit brauchen sie zur Erholung. Im Freiland findet die Erholung rascher und gründlicher statt als in Topfkultur.

Wie sehr die Keimpflanze von der Menge der ihr zur Verfügung stehenden Reservestoffe abhängig ist, zeigen die interessanten Messungen von Marek, welcher zeigte, daß die Zahlengrößen für sämtliche Pflanzenteile, Stengelhöhe, Wurzellänge, Zahl der Seitenwurzel, Zahl der Internodien, Entwicklung der Blätter, durch die belassenen Reservestoffe an den Körnern bestimmt ist und daß die Entwicklung der Keimpflanze von der Menge der Reservestoffe abhängt, respektive im genauen Verhältnis zur Größe der Körner steht. Werden große Erbsen an ihren Kotyledonen soweit reduziert, daß sie dem Gewichte von mittelgroßen und kleinen gleichkommen, so erzeugen sie Keimpflanzen von der Höhe und dem Stengeldurchmesser, welcher der Höhe und dem Stengeldurchmesser der aus mittelgroßen und kleinen Körnern erwachsenen Keimpflanzen gleich ist. In diesen Versuchen wurden auch aus großen Körnern entwickelte Keimpflanzen mit solchen aus kleinen Körnern entstandenen verglichen. Nach einer Entwicklung von achtzehn Tagen vom Tage des Auskeimens an gerechnet, maß die Hauptwurzel von aus großen Körnern entwickelten Pferdebohnen 150,8 mm, aus kleinen Körnern 130,7 mm; die Stengelhöhen waren 125,5 mm und 119,6 mm, die Differenz also zugunsten der großen Körner 20,1 mm und 5,9 mm. Erbsen aus großen Körnern hatten Wurzeln von 144,1 mm, Stengel von 144,6 mm, die aus kleinen Samen Wurzeln von 118,2 mm, Stengel von 148,6 mm. Der Mehrzuwachs betrug also hier 25,9 mm zugunsten der großen bei der Wurzel, dagegen 4,3 mm zugunsten der kleinen Samen beim Stengel. Das ist aber auch der einzige Fall, in dem der Mehrzuwachs zugunsten der geringeren Reservesubstanzmenge ausfiel, in allen anderen Fällen erscheinen die aus größeren Körnern erwachsenen Keimpflanzen in der Ausbildung ihrer Teile bevorzugt. Das sicherste äußere Kennzeichen

für die wertvollsten Stoffeinlagerungen bei Samen dürfte die Größe und Form sein. Die größten Körner enthalten die größte Menge der wertvollen Bestandteile und volle, bauchige Körner sind die besten Zeugen einer abgeschlossenen Entwicklung und erreichten Reife (Marek[1]). Große Körner produzieren denn auch namhaft bessere Qualität und Erntemengen an Pflanzen und die Keimpflanzen eilen in der Entwicklung denen aus kleinen Samen voran. Aber die größeren Samen liefern nicht nur größere Pflanzen, sondern diese sind auch widerstandsfähiger gegen äußere Schädigung, ihr größeres, ausgebreiteteres Wurzelsystem setzt sie in die Lage, die Nährstoffe des Bodens, ihre größere Assimilationsfläche die Kohlensäure der Luft besser auszunutzen. Es wurde schon davon gesprochen, daß in den Anfangsstadien der Entwicklung die aus großen Samen entwickelten Pflanzen hinter den anderen etwas zurückgeblieben erscheinen, denn die in der Minderzahl vorhandenen Nährstoffe bedingen einen rascheren Verbrauch durch die Keimpflanze, woraus wieder ihr schnelleres Wachstum resultiert, aber bald werden sie durch die aus größeren Samen entwickelten Keimpflanzen weit überholt, bis sich unter günstigen Vegetationsverhältnissen die Unterschiede wieder ausgleichen. Interessant sind die Daten der Versuche an Erbsen, in denen die Kotyledonen oder Teile derselben den Pflanzen weggenommen worden waren:

Benennung des Versuches	Stengelhöhe in mm	Hauptwurzel in mm	Zahl der Nebenwurzeln	Blattstiel in mm	Länge d. Blattspreite (am dritten Stengelknoten gemessen)	Breite d. Blattspreite (am dritten Stengelknoten gemessen)
Mit ganzen Körnern oder Radicula und Plumula mit 2 ganzen Kotyledonen	147 (5 Internod.)	124	29	18	13	12
Erbsen mit 2 halben Kotyledonen.	119 (5 „)	81	24	13	8	7
Erbsen mit 2 viertel Kotyledonen	95 (4 „)	76	12	11	5	4
Erbsen mit 2 sechstel Kotyledonen	78 (3 „)	74	7	7	4	3
Erbsen mit Resten von Kotyledonen	17 (2 „)	34	—	—	—	—
Erbsen ohne Kotyledonen	7 (1 „)	15	—	—	—	—
median halbierte Radic. u. Plum.	4 (1 „	10	—	—	—	—

In ausgedehnterem Maßstabe hat solche Versuche in neuerer Zeit L. v. Portheim[2]) durchgeführt und vor allem die einzelnen Teile des Stengels vergleichend bei größerem oder geringerem Betrage der Reservestoffe untersucht. Er fand bei Phaseolus vulgaris am achten Tage nach der Aufstellung die erreichte Länge der Hypokotyle der den Keimlingen zur Zeit des Versuchsbeginnes zur Verfügung stehenden Reservestoffmenge entsprechend und stellte die Reihe auf: Keim-

[1]) G. Marek, Das Saatgut und dessen Einfluß auf Menge und Güte der Ernte. Wien 1875.

[2]) L. v. Portheim, Über Formveränderungen durch Ernährungsstörungen bei Keimlingen mit Bezug auf das Etiolement. Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien **116** (1907).

linge mit 2 Kotyledonen — 1½ Kotyledonen — 1 Kotyledo — ½ Kotyledo — 0 Kotyledonen. Berechnet man die Gesamtlänge der Pflanzen, d. h. die Länge der Hypokotyle und jene der Epikotyle, so wird dadurch eine Verschiebung der für Hypokotyle allein geltenden Resultate bedingt. Der größte Unterschied ist bei den normalen Keimlingen und bei denen mit einem halben Keimblatt am vierten Tage wahrzunehmen. Am siebenten Tage sind unter den längsten Pflanzen 50 % der Keimlinge mit 2 Kotyledonen und 16,95 % der Keimlinge mit 1 Kotyledo, während die entsprechenden Werte bei den Hypokotylen 33,3 % und 32,8 % betrugen. In gewissen Entwicklungsstadien waren die Keimlinge, denen ein Teil der Kotyledonen abgeschnitten worden war, länger als die normalen Keimlinge; sie hatten auch schwächere Hypokotyle und kleinere Primordialblätter als diese, machten also, abgesehen von ihrer grünen Farbe, den Eindruck etiolierter Keimlinge, indem sie die für das Etiolement charakteristischen Erscheinungen der Streckung der Internodien des Stengels bei gleichzeitiger Verminderung des Durchmessers und Verkleinerung der Blattlamina aufwiesen; am deutlichsten ist diese Erscheinung zu einer Zeit zu beobachten, wo die Keimlinge bereits längere Hypokotyle, aber noch kleine Epikotyle entwickelt hatten. Bald nach Aufstellung des Versuches sind jene Keimlinge, denen ein Teil der Kotyledonen fehlt, länger als die normalen (besonders deutlich bei jenen mit der Hälfte des ursprünglichen Reservestoffvorrates). Am vierten und fünften Tage sind die Keimlinge mit 1 und die mit ½ Kotyledo am längsten, dann werden sie von den Keimlingen mit 2 Kotyledonen überholt und schließlich sind nur wenige Keimlinge mit 1½ und 1 Kotyledo unter den längsten zu finden, von denen mit ½ Kotyledo gar keine. Die Gesamtlänge der Keimlinge (Hypokotyl und Epikotyl) betrachtet, ergibt sich folgendes: Von den Keimlingen, welche die längsten Stengel gebildet hatten, entfielen

am 4. Tage	am 5. Tage	am 7. Tage	am 9. Tage	auf Keimlinge mit
0,00 %	25,33 %	49,18 %	61,29 %	2 Kotyledonen
100,00 %	74,67 %	50,82 %	38,71 %	1½, 1 und ½ Kotyledonen
73,33 %	69,33 %	24,59 %	9,68 %	1 und ½ Kotyledo
26,67 %	46,67 %	16,39 %	9,68 %	1 Kotyledo.

Am vierten Tage erreichen also nur Keimlinge mit geringeren Reservestoffmengen die größten Längen, am fünften Tage verhält es sich ungefähr so wie bei den Hypokotylen und später ist ein starker Rückgang der eines Teiles ihrer Reserven beraubten Keimlinge bemerkbar. Während also entsprechend den angeführten Versuchen von Sachs verdunkelte Pflanzenteile durch kräftige Ernährung seitens der nicht verdunkelten Organe der Pflanze zur normalen Ausbildung gelangen können, tritt umgekehrt durch Verringerung der Reservestoffzufuhr im Lichte bei Phaseoluskeimlingen Verlängerung, Schmächtigwerden der Stengelteile und Verkleinerung der Blattlamina ein.

Wenden wir uns nun zum **Nachweis der entstehenden Assimilationsprodukte,** so ist das sehr schnell nach Beginn der Chloroplastenarbeit im Lichte auftretende und nachzuweisende Produkt die Stärke. Mittels der gleich zu beschreibenden Sachsschen *Jodprobe* läßt sich dann Stärke im Chloroplasten nachweisen. Aber schon der Umstand, daß die Pflanzenstärke bekanntlich organoide Formen zeigt, verschieden in der Struktur,

je nach der Pflanzenart, in der sie entstanden ist, auftritt, beweist, daß die Stärke nicht unmittelbar durch einen einfachen chemischen Prozeß entsteht, sondern daß die Komponenten, aus denen sie gebildet wird, durch die formende Kraft des Protoplasten zu Stärke synthetisiert werden. Vielleicht ist die Stärkebildung auch hier eine Art Gleichgewichtsprozeß, durch den infolge Überschusses von löslichem, osmotisch wirksamem Bildungsmaterial, etwa Zucker, die osmotisch nicht wirksame Stärke gebildet wird, also ähnlich wie bei Polymerisation in den Reservestoffbehältern. Bisher ist übrigens bei höheren Pflanzen niemals ein anderer Stoff als direktes Assimilationsprodukt aufgefunden worden als ein Kohlehydrat (das Auftreten von Öl bei Algen, ferner bei Musa, Strelitzia ist überdies nicht unbestritten geblieben), aber unter den Kohlehydraten ist die Stärke nicht das einzige, sondern viele Pflanzen (Liliaceen, Amaryllideen usw.) bilden bei der Assimilation überhaupt keine Stärke sondern nur reduzierende Zuckerarten. Manche Pflanzenarten, wie namentlich die Kompositen, aber auch Campanulaceen und einige andere, bilden wohl ein Polysaccharid, aber niemals Stärke sondern das Inulin (Fig. 53), welches als Polysaccharid der Lävulose zu gelten hat. Bei der Assimilation bildet es sich in den Blättern von Kompositen z. B. von Zichorium Intybus, Helianthus tuberosus, Dahlia var. im Betrage von 4—5 % aus, so daß man es durch die gebräuchliche mikroskopische Methode — Bildung von Sphärokristallen beim Einlegen in starken Alkohol — nachweisen kann. Dabei treten um die Gefäßbündelscheide herum eigenartige, winzige, kugelige Aggregate auf, die sich mit Jodtinktur bräunlichrot färben und entweder Inulin oder dextrinartige Zwischenprodukte zwischen Lävulose und Inulin oder Übergangsprodukte zur Stärke bilden (Lävulose geht überaus leicht in Dextrose über). Alle diese Kohlehydrate zeigen wechselweisen Übergang in Fett, respektive Öl. Aber auch der Zucker ist zu komplizierter Zusammensetzung, als daß man an seine primäre Bildung bei der Assimilation denken könnte. Als solches primäres Assimilationsprodukt kommt heute wohl mit großer Wahrscheinlichkeit der Formaldehyd in Betracht, aus welchem auch extra vitam durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht Glykolaldehyd, respektive Zucker entsteht und aus dem durch einfaches Stehenlassen mit Kalklösung schon vor längerer Zeit eine Zuckerart durch O. Loew dargestellt wurde. Nun ist Kalk ein Agens, dessen Wirksamkeit in der lebenden Pflanze nicht nur angenommen werden kann, sondern angenommen werden muß, da der Kalk einen unentbehrlichen Nährstoff der Pflanze vorstellt und auch nachweislich beim Zuckertransport eine große Rolle spielt. Bekanntlich ist das Auftreten von Formaldehyd als erstes Assimilationsprodukt von A. v. Baeyer zuerst ausgesprochen worden und diejenigen Forscher, welche sich seiner Hypothese anschlossen, suchten das Vorkommen von Formaldehyd in assimilierenden Blättern zu erweisen. Nun ist es tat-

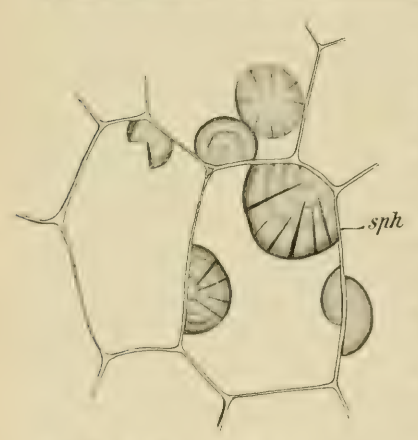


Fig. 53. Sphärokristalle *sph* von Inulin im Gewebe, entstanden durch Einlegen der inulinführenden Schnitte in starken Alkohol.

sächlich möglich, in assimilierenden Organen das Formaldehyd-Vorkommen nachzuweisen, wie zuerst Pollacci gezeigt hat, dessen Befunde ich durch das einzige bisher gefundene spezifische und auf kleinste Mengen Formaldehyd wirksame Reagens, eine Auflösung von 3 % Diphenylamin in konzentrierter Schwefelsäure, das mit Formaldehyd Smaragdgrünfärbung liefert, bestätigen konnte; aber das Auffinden des für die Pflanze sehr giftigen Formaldehyds kann kaum dem normalen Gang der Assimilation entsprechen, sondern die aufgefundenen Mengen Formaldehyd sind wohl der Ausdruck einer parallel laufenden Nebenreaktion. Man muß sich vielmehr vorstellen, daß normalerweise gar nicht Formaldehyd in Substanz gebildet wird, sondern labile Gruppen, welche in ihrer stabilen Form den Formaldehyd bilden, unter der Einwirkung von Kondensationen sofort zu höheren, ungiftigen Komplexen zusammentreten. Übrigens erweist sich Formaldehyd als wenig giftig für die höhere grüne Pflanze, wenn er ihr vom Luftraume aus in Gasform geboten wird. Offenbar ist in dieser Form der Zerfall in labile Gruppen gefördert, während das Formaldehydmolekul in wässeriger Lösung durch Hydratation stabilisiert erscheint, wodurch er als Gift wirken muß. Ich habe zahlreiche ernährungsphysiologische Versuche mit Formaldehyd in dieser Weise der Darbietung angestellt und immer eine auffallende Förderung der Versuchspflanzen durch gasförmigen Formaldehyd wahrgenommen, selbst wenn das Gas in einer Konzentration geboten wurde, welche der zehnfachen des normalen Kohlensäuregehaltes der Luft (0,033 Vol. proz.) entsprach. Phaseolus vulg. und Lupine wuchsen bei diesen Mengen, welche natürlich durch den Geruch wahrgenommen werden können, nicht nur, sondern sie ziehen den Formaldehyd dabei in Bereich ihres Stoffwechsels und können mit diesem Gas an Stelle von Kohlensäure ihr Auslangen finden, während Kohlenoxyd, das ja auch als Reduktionsprodukt der Kohlensäure betrachtet werden kann, stets als Gift wirkt. Von einer Reizwirkung durch Formaldehyd, wodurch das Wachstum beschleunigt worden sein könnte, kann nicht die Rede sein, da zahlreiche andere organische Substanzen, die ich geprüft habe und die dem Formaldehyd als Homologe oder Derivate nahestehen, stets auch in ungleich kleineren Mengen toxisch, keinesfalls aber wachstumsfördernd wirken. Bedingung für das Gelingen dieser Versuche ist ein sorgfältiger Abschluß des Kultursubstrates vor dem Einflusse des Formaldehyds, denn es hat sich gezeigt, daß dieser Aldehyd, welcher ja eines unserer besten Desinfizientien vorstellt, auf nichtgrüne Organismen und Pflanzenorgane als Gift wirkt, während durch das Chlorophyll auf irgendeine uns noch unbekannte Weise eine Entgiftung desselben stattfindet. Im Dunkeln wird kein Formaldehyd aufgenommen, vielleicht deshalb, weil er im Finstern in eine nichtflüchtige polymere Modifikation übergeht. Über die Methoden zum Nachweis des von den Pflanzen verbrauchten und zurückgelassenen Formaldehyds muß auf meine diesbezüglichen Abhandlungen verwiesen werden.

Der *qualitative Nachweis von reduzierendem Zucker* wird in der Weise geführt, daß man den mit heißem Wasser gewonnenen Extrakt aus den betreffenden Pflanzenteilen mit einigen Kubikzentimetern Fehlingscher Lösung versetzt und zum Kochen erhitzt. Die anfänglich grüne Farbe des Extraktes macht bald einer gelblichrötlichen Färbung Platz, worauf in der weiteren Folge ein ziegelroter

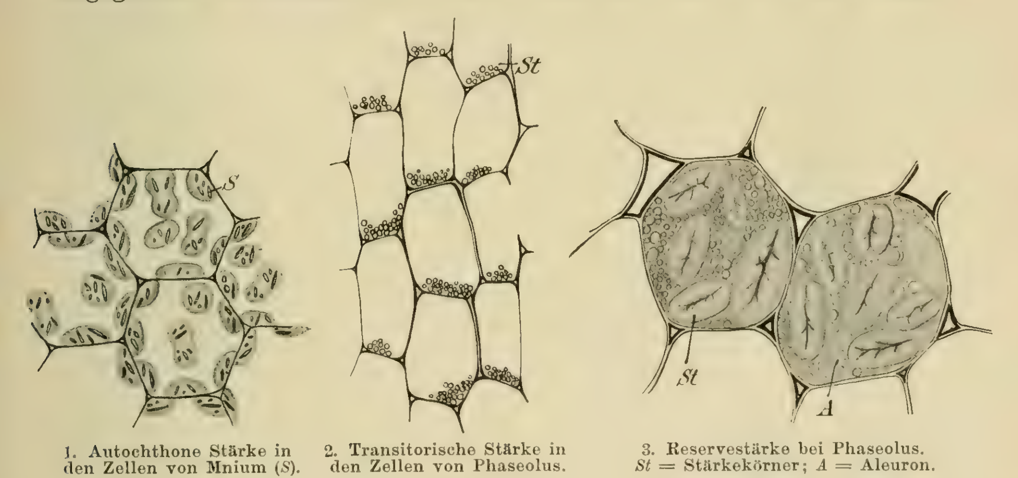
Niederschlag sich zu Boden setzt (Kupferoxydul); bei Vorhandensein sehr kleiner Zuckerquantitäten fällt der Niederschlag nicht sofort, sondern es braucht längere Zeit, eventuell 24 Stunden, nach welcher Zeit sich der Niederschlag entweder abgesetzt hat oder die Flüssigkeit wenigstens in der Aufsicht gelbrot erscheint.

Der qualitative Nachweis von Stärke kann direkt im Blatte geführt werden und ist bei ausreichender Assimilation schon makrochemisch, sicher aber bei mikroskopischer Prüfung zu erkennen. Die Prüfung auf Stärke, die Sachssche Jodprobe, wird folgendermaßen geführt: Das zu untersuchende Blatt wird zunächst mit Wasser gekocht, bis seine ursprüngliche Straffheit verschwunden ist. Nach der Abtötung des Blattes wird es in starkem Alkohol gekocht, wodurch das Chlorophyll entfernt wird; das Blatt erscheint jetzt weißlich oder gelblich und ganz weich. Nun legt man es in eine dunkelbraune Jodlösung (eine alkoholische Jodlösung wird mit so viel Wasser versetzt, bis sie die Farbe sehr dunklen Bieres angenommen hat) und läßt es so lange darinnen, bis sich die Färbung des Blattes nicht mehr ändert. In auffallendem Lichte, auf einer weißen Porzellanschale oder im durchfallenden Lichte betrachtet, zeigt das Blatt entweder dunkle Flecken der Jod-Stärkeverbindung, die unter dem Mikroskop schwarzblau aussehen, oder ist in seiner ganzen Fläche samtartig braunschwarz, bei wenig Stärke bräunlich. Oder aber man legt das Blatt, ohne es vorher in Wasser zu kochen, nach dem Extrahieren des Chlorophylls mit Alkohol in eine Lösung von Jod in Chloralhydrat, wobei man den Vorteil hat, das Präparat schön aufgehellt und unter dem Mikroskop die einzelnen blau gefärbten Stärkekörner zu sehen, während nach dem Kochen mit Wasser natürlich der ganze Stärkegehalt verkleistert wird. Daß Stärkebildung nur in den belichteten Blattstellen stattfinden kann, kann man zu Demonstrationszwecken in der Weise zeigen, daß man das Blatt mit einem Stanniol- oder Zinkblechstreifen überdeckt, aus dem etwa das Wort „Stärke“ ausgeschnitten ist, und es nun dem Lichte aussetzt. Nur an den ausgestanzten Stellen vollzieht sich Stärkebildung, so daß nach Vornahme der Jodprobe das genannte Wort in schwarzbrauner Farbe auf dem Blatte erscheint (Fig. 54). Wenn man mit einem Blatte die Stärkeprobe vornimmt, das mehrere Tage im dunklen Raume verweilt hatte, so findet man das Blatt stärkeleer; die Entstärkung kann auch durch niedere Temperatur und andere Umstände bewirkt werden. Die Notwendigkeit des Chlorophyllfarbstoffes für die Stärkebildung kann man an den weißen Stellen eines panaschierten Blattes von Acer Negundo beobachten: an den weißen Stellen hat sich keine Stärke gebildet. Die Notwendigkeit freier Kohlensäure erkennt man daran, daß ein Blatt, dessen Spaltöffnungen etwa durch Kakaobutter oder Vaseline verlegt worden sind, sich auch nach entsprechender Exposition am Lichte als stärkefrei erweist, da die Spaltöffnungen, die Eingangspforten für die Kohlensäure, nicht funktionieren. Die Kohlensäure kann man auch ausschließen, wenn man die Versuchspflanze unter eine Glocke G bringt (Fig. 55), in deren Tubus sich ein Natronkalkrohr R befindet, welches



Fig. 54. Sachssche Jodprobe.

wohl der Luft Eintritt gestattet, jedoch die Kohlensäure derselben absorbiert. Zweckmäßig stellt man den Pflanzentopf in eine Schale *C* mit starker Kalilauge unter die Glocke (erhöht, etwa auf einen Glasblock, damit die Kalilauge nicht den Tontopf benetzt und eindringt), damit die Kohlensäure mit Sicherheit absorbiert wird. Die Glocke muß luftdicht auf einer Glasplatte aufsitzen und mit Vaseline darauf abgedichtet sein oder man stellt den Verschluß der Glocke in einer Schale direkt durch Natronlauge (sie ist wohlfeiler als Kalilauge) her. Lauge ist zweckmäßiger als feste Ätznatronstücke. Die Pflanze wird in stärkefreiem Zustande, also nach mehrtägigem Dunkelstehen, unter die Glocke gebracht und die Glocke in helles Licht gestellt. Trotzdem wird man auch nach längerer Zeit mit der Jodprobe keine Stärke nachweisen können, da die Kohlensäure mangelt. Trotzdem wird man aber auf diese Weise die Assimilation niemals mit absoluter Sicherheit ausschließen können, da die Möglichkeit vorliegt, daß die im Atmungsprozeß abgegebene Kohlensäure d i r e k t , eventuell ohne erst die Pflanze



1. Autochthone Stärke in den Zellen von Mnium (*S*). 2. Transitorische Stärke in den Zellen von Phaseolus. 3. Reservestärke bei Phaseolus. *St* = Stärkekörner; *A* = Aleuron.

Fig. 55. Typen von autochthoner, transitorischer und Reservestärke.

verlassen zu haben, bei der Assimilation Verwendung findet. Versuche, welche bei Ausschluß der Assimilation vorgenommen werden sollen, können daher nur im Dunkeln angestellt werden, wobei man aber allerdings die Korrelation der normalen Stoffwechselvorgänge empfindlich stört. Daß die Stärkebildung kein direkter, sondern ein Magazinierungsprozeß ist, erkennt man, wenn man stärkefreie Blätter (seien es ausgehungerte oder normal stärkefreie, wie die von Iris germanica) auf konzentrierter Zuckerlösung schwimmen läßt, wobei sie sich mit Stärkekörnern füllen, indem der aufgenommene Zucker sofort in Stärke verwandelt wird. Das beweist übrigens auch, daß die grünen Pflanzen nicht so ausschließlich autotroph sind wie es den Anschein hat, sondern daß sie bei Darbietung organischer Substanzen diese ebenfalls als Nahrung verwenden können, also fakultativ heterotroph sind. Es wurde von M o l l i a r d , L e f è v r e u. a. gezeigt, daß Keimlinge von Senf, Kresse usw. imstande sind, sogar durch die Wurzeln Aminosäuren aufzunehmen, ich habe dasselbe bezüglich der Aufnahme von Mono- und Disacchariden bei Phaseolus vulgaris nachgewiesen und auch die von mir festgestellte

Aufnahme gasförmigen Formaldehyds durch oberirdische Pflanzenorgane gehört hierher. Es muß hier übrigens darauf hingewiesen werden, daß Phaseolus vulgaris, der normalerweise bei der Assimilation Stärke bildet und, wie erwähnt, bei Formaldehyddarreichung mindestens so gut oder besser gedeiht als die normal ernährte Pflanze, auffallenderweise bei Formaldehydernährung nur wenig Stärke bildet, daß aber seine Organe mit reduzierendem Zucker überfüllt sind. Durch diese abnormale Art der Ernährung wird die Stärkepflanze Phaseolus zu einer Zuckerpflanze, wie es die Liliaceen und Amaryllideen sind, Frühlingspflanzen, deren infolgedessen stärkeres Wachstum einen biologischen Zweck erfüllt. Seit altersher wurde von der neueren Physiologie die Anschauung übernommen, daß bei Tage, im Licht die B i l d u n g der Assimilate, in der Nacht, im Dunkeln deren Ableitung aus den Blättern stattfinde (Fig. 56). Man schloß das vor allem daraus, daß im Blatte einer assimilierenden Pflanze am Morgen keine oder nur wenig mit der Jodprobe nachweisbare Stärke vorhanden ist. Meine Untersuchungen an der Inulinpflanze Cichorium Intybus haben ergeben, daß hier der Inulingehalt der Morgen- und Abendblätter nur wenig schwankt, und daß also offenbar eine fortwährende Ableitung dieses löslichen Kohlehydrates stattfindet, daß aber vielleicht dessen Verarbeitung im Stoffwechsel durch die Dunkelheit verlangsamt wird, so daß am Morgen der Inulingehalt der Blätter nur unwesentlich abgenommen hat, obwohl ja in der Nacht kein neues gebildet wird. Meine auf Stärkepflanzen ausgedehnten Untersuchungen haben ergeben, daß sich bei Phaseolus vulgaris ein ähnlicher Vorgang vollzieht: wohl ist am Morgen die Stärke verschwunden und im Blatte mit der Jodprobe nicht auffindbar, aber das Blatt ist am Morgen ungleich zuckerreicher als am Tage; es ist also nicht die A b l e i t u n g der Assimilate, welche ausschließlich bei Nacht stattfindet, sondern die Hydrolyse der Stärke, was ja um so verständlicher ist, als, wie oben erwähnt, deren Bildung der Ausdruck eines Aufstapelungsprozesses ist, ein chemischer Vorgang, der untertags, also bei fortwährender Neubildung von Assimilaten, nach einer Richtung, nach der Richtung der Stärkebildung hin sich vollzieht, während bei Nacht, wenn die Assimilation sistiert ist, der reversible Vorgang, Wiederumwandlung von Stärke in lösliche Kohlehydrate statthat, die nun ihrerseits wandern können. Die Diffusion des Zuckers ist aber offenbar durch das Licht stark beeinflußt, hat doch T r ö n d l e gezeigt, wie sehr sich die Permeabilität des Plasmas durch das Licht verändert, und so dürfte die Ableitung der Assimilate in den ersten Morgenstunden vor sich gehen. Vielleicht vollzieht sie sich auch — und das ist die wahrscheinlichste Annahme — ebenso wie die des Inulins, unausgesetzt bei Tag und bei Nacht, vielleicht ist sie sogar nach dem Dargelegten bei Nacht überhaupt gehemmt und vollzieht sich in stärkerem Ausmaße überhaupt untertags. Man kann zeigen, daß Blätter von Landpflanzen nicht so wie die von Wasserpflanzen unter Wasser Stärke bilden, wenn

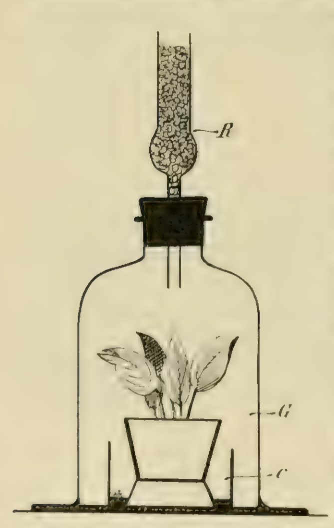


Fig. 56. Zur Demonstration des Ausbleibens der Assimilation bei Kohlensäuremangel.

man solche Blätter derart unter Wasser taucht, daß sie zum Teil vom Wasser bedeckt sind: der unter Wasser befindliche wird bei der Untersuchung am Abend stärkefrei befunden. Für den Nachweis, daß Stärke nur bei voller Funktion der Spaltöffnungen gebildet wird, verwendet man am besten solche Blätter, deren Spaltöffnungen sich alle auf der Unterseite befinden; Stahl empfiehlt dafür Prunus padus, nach Darwin und Acton ist auch Sparmannia africana geeignet; man geht am besten so vor, daß man die Unterseite einer Blatthälfte mit einem gasdichten Überzug versieht.

Ebenso wie eine allzu geringe Quantität CO_2 oder deren Fehlen die Stärkebildung verhindert, so auch ein Überschuß dieses Gases. Übrigens stellt der normale Kohlensäuregehalt der Atmosphäre nicht das Optimum der Assimilation dar, sondern etwa das Zehnfache desselben. Am geeignetsten sind für Versuche mit Kohlensäureüberschuß Callitriche und Lemna, welche allerdings sehr lange Zeit vorher in der Dunkelheit gehalten werden müssen, um entstärkt zu sein. Zwei Meßzylinder von zirka 200 ccm Inhalt werden dann, mit Wasser gefüllt, verkehrt in Wasser aufgestellt und entstärkte Callitrichepflanzen in die Zylinder hineingetan, so daß sie bis zu dem in die Luft ragenden Boden des Gefäßes hinaufschwimmen. In den einen Zylinder läßt man nun ein Gemenge von gleichen Teilen CO_2 und Luft einströmen, in den anderen ein Gemisch von 12 Teilen Luft und 1 Teil CO_2. Dieses Verhältnis bleibt allerdings nicht ungeändert, da ja das Wasser Gas absorbiert, aber während der 24 stündigen Dauer des Versuches ist sicherlich in dem einen Gefäß ein weit höherer CO_2-Betrag vorhanden als das Optimum ausmacht; in dem anderen sinkt dieser Betrag nicht unwesentlich unter das Optimum. Die das Optimum an CO_2 genießenden Pflanzen sind am Abend vollgepfropft von Stärke, die anderen ganz stärkefrei. Um *Wasser kohlensäurefrei* zu machen, ist folgendes Verfahren angemessen. Ein Kolben (Fig. 57) wird mit Leitungswasser gefüllt, das vorher gerade gekocht worden ist, so daß es als gasfrei gelten kann, und von dem gewöhnlich sich bildenden Niederschlag von $CaCO_3$ durch Filtrieren getrennt worden ist. Das Wasser in *A* wird 20 Minuten gekocht, während die Verbindung mit *B*, das eine starke Kalilösung enthält, gelöst ist. Wenn die Flamme unter *A* entfernt wird, stellt man durch Aufsetzen des Stopfens *C* die Verbindung mit der Kalilauge her. Während das Wasser im Kolben erkaltet, wird Luft bei *D* eingelassen, welche, durch die Kalilauge streichend, von CO_2 befreit wird. Das so vorbereitete Wasser wird für die kohlensäurefreie Kultur von Wasserpflanzen verwendet; das Kulturgefäß muß mit einem Kautschukstöpsel verschlossen sein, durch dessen Bohrung ein gefülltes Natronkalkrohr gesteckt ist. Ein genau so adjustiertes Gefäß, in dessen Wasser man aber durch Hineinblasen mittels

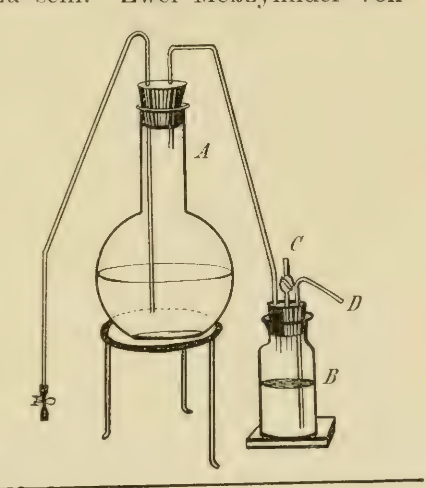


Fig. 57. Darwins Methode zur Herstellung kohlensäurefreien Wassers.

eines Glasrohres aus den Lungen Kohlensäure hat einströmen lassen und dessen verschließendes Rohr statt mit Natronkalk mit grobem Sand gefüllt ist, kann für die normale Kontrollkultur Verwendung finden. Sachs hat aber auch gezeigt, daß eine gegebene *Blattfläche am Abend schwerer ist als am Morgen*, entsprechend der Menge der gebildeten Assimilate. Von breitbeblätterten Pflanzen, wie Helianthus, Cucurbita, Rheum, wird aus dem Blatte mit Schablonen, die ein Quadrat mit 10 cm Seitenlänge, bzw. ein rechtwinkliges Stück 10 × 5 cm darstellen, ein Stück herausgeschnitten. Diese Schablonen dienen dazu, um Stücke von 100 ccm respektive 50 qcm herauszuschneiden. Das Experiment muß, obzwar die ganze Pflanze am vorhergehenden Abend ins Dunkle gestellt worden war, bald nach Sonnenaufgang beginnen. Fünf bis sechs gesunde Blätter werden gesammelt und jedes der Länge nach eng an der Mittelrippe halbiert; die von der Pflanze abgetrennte Blatthälfte wird sofort untersucht, die andere Hälfte wird bis zum Abend an der Pflanze belassen. Jede Blatthälfte wird folgendermaßen weiterbehandelt: sie wird auf eine flache Porzellanschale gelegt, wobei die Unterseite des Blattes nach aufwärts gewendet ist, so daß die hervortretenden Gefäßstränge deutlich zu sehen sind. Die Schablonen werden nun zwischen die breiteren Nerven gelegt, daß man möglichst nervenfreie Blattstücke erhält. Die rechteckigen Blattstücke werden darauf rasch durch strömenden Dampf abgetötet; nachdem sie lufttrocken geworden sind, werden sie gepulvert, getrocknet und gewogen. Am Abend wird derselbe Prozeß mit den Kontrollhälften durchgeführt. 100 qcm werden aus den Hälften von sieben Blättern von Helianthus annuus herausgeschnitten; in einem Versuche von Acton war das Trockengewicht von 700 qcm um 5 ^{h} a. m. 3,054 g, um 3 ^{h} p. m. 3,693 g, Differenz 0,639 g; das entspricht 0,9 g pro Quadratzentimeter der Blattoberfläche und pro Stunde. Die Wägungsmethode wird von Sachs auch umgekehrt für Demonstration der Stärketranslokation bei Nacht angewendet. Wenn man am Abend die Hälften verschiedener Blätter abschneidet und nach Prüfung von kleinen Stücken die abgeschnittenen Hälften auf feuchtem Filtrierpapier unter eine Glocke in einen kühlen, dunklen Raum und daneben die Pflanze in denselben Raum stellt, kann man beobachten, daß am Morgen die an der Pflanze verbliebenen Blatthälften weit mehr Stärke verloren haben als die weggenommenen Hälften. Sparmannia gibt nach Acton ein gutes Ergebnis, wenn sie von 5 ^{h} p. m. bis 10 ^{h} 30 a. m. verdunkelt wird, worauf die an der Pflanze verbliebenen Blatthälften stärkefrei sind und gut mit den abgenommenen Blatteilen kontrastieren.

Um die *Assimilation von Zucker* zu zeigen, werden Wasserpflanzen, wie Elodea, Potamogeton, Lemna, Callitriche, in 500 ccm fassende Gefäße mit Leitungswasser gesetzt, von denen eines mit 3 % Rohrzucker, das andere mit 5 % Glyzerin, das dritte mit keiner organischen Substanz versetzt wird. Es ist wichtig, daß ungefähr gleich große und gleich kräftige Exemplare gewählt werden und daß die Objekte im Verhältnis zu der Wassermenge in den Gefäßen klein seien. Die Gefäße werden 8—10 Tage (für Lemna genügen im Sommer 6 Tage) im Dunkeln belassen, worauf die Prüfung in bezug auf Aussehen, Wachstum und Stärkegehalt erfolgt. Die Kontrollexemplare sind stärkefrei und tot oder sehr geschädigt, während die mit Zucker oder Glyzerin genährten Pflanzen sichtlich besser stehen und mehr oder weniger Stärke

enthalten. Dabei gedeihen die Glyzerinkulturen gewöhnlich nicht so vorzüglich wie die Zuckerkulturen. Die bald eintretende Verpilzung in solchen Versuchen kann man ein wenig zurückdrängen, wenn man die Gefäße vorher mit ½ prozentiger Sublimatlösung und nachher mit kochendem Wasser auswäscht. Auch die Kulturflüssigkeiten müssen sterilisiert und in den mit Wattestöpseln versehenen Sterilisierkolben abkühlen gelassen werden. Für diese Form der Stärkebildung aus dargebotenem organischen Material ist also kein Chlorophyll, ebensowenig wie der ganze Assimilationsapparat nötig, auch farblose Pflanzenteile bilden reichlich unter diesen Umständen Stärke. Sehr gut eignen sich für diesen Versuch die weißen Blüten von Phlox paniculata. Man läßt sie einfach auf den vorhergenannten Zucker- oder Glyzerinlösungen schwimmen, während Kontrollpflanzen in reinem Wasser gezogen werden. In einigen Tagen füllen sich die organisch ernährten Blüten mit Stärke, während die Kontrollkulturen stärkefrei bleiben. Die Verwendung farbloser Organe, wie weißer Blüten, ist auch deswegen vorteilhaft, weil das Auskochen mit Alkohol als Entfärbungsmittel unterbleiben kann und die Blätter nur durch bloßen Wasserdampf vor Anstellung der Jodprobe abgetötet zu werden brauchen.

Zum *Nachweis von Zucker* [1]) dient am besten die Reaktion mit Fehlings Lösung, aber es gibt auch eine Reihe schöner Farbenreaktionen, die, wenn auch nicht eindeutig, doch zum vorläufigen Nachweise dienen können. Zum *Nachweis von Pentosen* dient die Farbenreaktion mit Phlorogluzin-Salzsäure, mit Arabinose oder Xylose, respektive mit Materialien, welche wie Gummiarten diese Pentosen bei der Hydrolyse entstehen lassen, gibt das Reagens eine schöne rotviolette Färbung: man bringt in die zu prüfende Lösung eine erbsengroße Menge Phlorogluzin, setzt die gleiche Quantität konzentrierter Salzsäure hinzu und erwärmt sehr langsam bis zum beginnenden Kochen. Die rotviolette Färbung tritt sehr bald auf und verstärkt sich beträchtlich, um nach einiger Zeit einer braunen Trübung durch Abscheidung von Huminstoffen Platz zu machen; verwendet man eine Mischung von Alkohol und Äther statt des Wassers (wobei die Erwärmung im Wasserbad vorgenommen wird), so bleibt die Färbung dauernd erhalten. Die Flüssigkeit gibt im Spektralapparat ein scharfes, schwarzes Absorptionsband im Gelb zwischen den Linien *D* und *E* rechts von der Natriumlinie. Beim Erhitzen mit Salzsäure liefern Pentosen und Pentosane (die Reaktion geht z. B. sehr gut mit Stroh) Furfurol, welches mit den Dämpfen der wässerigen Salzsäure flüchtig ist und im Destillat durch essigsaures Anilin nachgewiesen werden kann, mit dem es selbst in Spuren intensive kirschrote Färbung liefert. Die Lösung von Anilinazetat stellt man her, indem man gleiche Volumina von Anilin und Wasser in der Eprouvette unter starkem Schütteln so lange mit Eisessig tropfenweise versetzt, bis die vorher milchig getrübte Flüssigkeit plötzlich klar wird. Von dieser Lösung wird ein Tropfen auf Filtrierpapier getropft und das Reagenzpapier vor das Rohr des Destillationsapparates gehalten: jeder Tropfen des Destillates liefert die rote Färbung. Allerdings liefern auch Hexosen und Hexosane merkliche Mengen Furfurol, man kann aber

[1]) Näheres über Zuckernachweis in der ausgezeichneten Abhandlung von B. Tollens im 2. Bande von Abderhaldens biochemischen Arbeitsmethoden

im großen ganzen diese Reaktion doch als typische Pentosenreaktion gelten lassen. Man kann die rohen Pflanzenteile oder auch den Extrakt daraus zur Furfuroldestillation verwenden. Methylpentosen (Rhamnose, Fukose usw.) geben bei der Destillation mit Salzsäure Methylfurfurol, welches mit Anilinazetat nur Gelbfärbung gibt, die durch die Rotfärbung ganz verdeckt wird; erwärmt man aber einige Kubikzentimeter des Destillates mit ihrem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure gelinde, so färbt es sich gelb, Alkohol und Schwefelsäure färben das Destillat grün. Zum *Nachweis von Hexosen oder Hexosegruppen*, ferner zum Nachweis aller Polysaccharide, welche Hexosen bei der Hydrolyse liefern, dient die Entstehung von Lävulinsäure beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure; die Bestimmung der Lävulinsäure geschieht durch deren Extraktion aus der Flüssigkeit mittels Äthers und Überführung in das gut charakterisierte, unter dem Mikroskop zahlreiche sechsseitige Täfelchen, Sechsecke oder auch (in weniger reinem Zustand) federartige Kristalle zeigende Silbersalz. 5—10 g der betreffenden Substanz werden im Kolben am Rückflußkühler mit 20—50 ccm Salzsäure von 18—20 % im kochenden Wasserbade 5—20 Stunden lang gekocht, bis starke Huminabscheidung eingetreten ist; dann filtriert man die braune Flüssigkeit vom Niederschlag ab, schüttelt sie viermal mit Äther aus, trennt die ätherische Lösung im Scheidetrichter von der ausgeschüttelten Flüssigkeit, destilliert den Äther ab und bewahrt den in ein Schälchen gegossenen Rückstand bei gelinder Wärme auf. Ein in Wasser gegossener Tropfen des Sirups gibt auf Zusatz von Natronlauge und Jod in der Kälte Jodoformgeruch oder mehr oder weniger starke Ausscheidung von Jodoform. Man löst nun, um das Silbersalz darzustellen, den Sirup in Wasser, kocht mit etwas Zinkweiß und nachher mit Blutkohle, filtriert und dunstet ein; das nun auskristallisierende lävulinsaure Zink wird abfiltriert, wenig absoluter Alkohol und Äther darauf gebracht, wieder abfiltriert, worauf der Niederschlag meistens hell geworden ist. Nun löst man ihn in 5 bis 10 ccm Wasser unter Erwärmen, setzt eine Lösung von Silbernitrat zu, erwärmt zum Kochen, bis das anfänglich ausgeschiedene Salz sich wieder gelöst hat, setzt etwas Blutkohle zu und filtriert, worauf sich im Filtrat bald das Silbersalz ausscheidet. Als *Farbenreaktion auf Dextrose* kann man ein Zusammenbringen des Extraktes mit Diazobenzolsulfosäure, etwas Alkali und Natriumamalgam verwenden, worauf sich nach zehn Minuten eine rotviolette Färbung zeigt. Zur Ausführung der sehr sicheren (natürlich auch Lävulose usw. anzeigenden) Phenylhydrazinprobe setzt man zum Extrakt eine kleine Menge (0,2—0,3 g) salzsauren Phenylhydrazins und ebenso viel Natriumazetat, worauf man die Eprouvette im siedenden Wasserbad 30 Minuten erhitzt (nachdem man vorher eventuell zur völligen Auflösung der zugesetzten Salze etwas Wasser hinzugefügt hat). Darauf wird die Eprouvette sofort in kaltes Wasser getaucht, wobei das Osazon in gelben, unter dem Mikroskop charakteristisch zu Sternen vereinigten Nadeln ausfällt. Das Glukososazon ist durch seinen Schmelzpunkt weiter zu charakterisieren. Eine Reaktion, welche Dextrose, was besonders ins Gewicht fällt, von *Lävulose zu unterscheiden* gestattet, ist die Entstehung von *Zuckersäure* beim Abdampfen von Glukose oder auch von Stärke mit Salpetersäure von 1,15 spezifischem Gewicht. 5 g Substanz werden mit 30 ccm HNO_3 in einer Porzellanschale unter Umrühren auf kochendem Wasserbad zu einem Sirup eingedampft, bis die Entwicklung von braunen

Dämpfen aufhört und der anfangs farblose Sirup deutlich und dauernd gelb zu werden beginnt. Dann wird er in wenig Wasser gelöst und unter Erhitzen über kleiner Flamme solange mit gepulverter Pottasche verrührt, bis eine Probe der braungewordenen Masse auf befeuchtetem rotem Lackmuspapier deutliche Blaufärbung hervorruft, worauf man Eisessig zusetzt, bis die Masse stark danach riecht; nach gelindem Verdunsten der Flüssigkeit wird die Masse von ausgeschiedenem zuckersaurem Kali dick, man preßt den Niederschlag auf Ton ab, löst ihn in möglichst wenig heißem Wasser und kristallisiert ihn nach eventueller Reinigung mit Blutkohle um. Das getrocknete Salz wird gewogen, in wenig Wasser unter sehr vorsichtigem Zusatz von Ammoniak zum Neutralisieren gelöst und in eine kalte Lösung aus dem 1½ fachen Gewichte des Kalisalzes an Silbernitrat gegossen; es fällt zuckersaures Silber, das nach gutem Zerrühren und Stehen abfiltriert, gewaschen, über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet und im Porzellantiegel stark geglüht wird; es enthält 50,94 % Ag.

Um *auf Fruktose (Lävulose) zu prüfen*, erwärmt man die zu prüfende Lösung mit Resorzin und Salzsäure, worauf bei Gegenwart von Fruktose oder Fruktose abspaltenden Polysacchariden oder Rohrzucker eine schöne lebhaft rote Färbung eintritt. Die Zuckerlösung wird mit ¼ ihres Volumens konzentrierter HCl vermischt und eine Messerspitze voll Resorzin dazugefügt; die Erwärmung muß sehr allmählich erfolgen. Die nach einigen Minuten sich entwickelnde Färbung ist charakteristisch feuerrot und wird mit der Zeit durch Absetzen von Huminstoffen grau und undurchsichtig; die rote Flüssigkeit liefert im Spektralapparat im roten und violetten Teil des Spektrums zwischen Grün und Blau dunkle Bande. Diese Reaktion ist übrigens für Ketohexosen überhaupt charakteristisch. Nimmt man zu konzentrierte Säure oder kocht man zu intensiv, so kann auch Glukose allein die Reaktion geben; am sichersten ist es, den HCl-Gehalt der zu prüfenden Flüssigkeit auf 12½ % zu halten (spezifisches Gewicht 1,06), bei Ausschütteln der rotgefärbten Probe mit Essigäther färbt dieser sich gelb. Statt Salzsäure verwendet man zweckmäßig ein Gemisch von 750 ccm Alkohol von 96° B. und 200 g konzentrierter Schwefelsäure. Erhitzt man eine Probe mit 0,05 g Fruktose, 5 ccm des Alkohol-Schwefelsäuregemisches, 5 ccm Alkohol und 0,2 ccm einer 5 prozentigen Resorzinlösung, so tritt nach Einsetzen der Eprouvette in das heiße Wasserbad binnen einer Minute die Rotfärbung ein ebenso wie mit Fruktose enthaltenden Polyosen, während mit Dextrose oder Dextrosanen erst nach 35 Minuten eine Färbung auftritt. Noch schöner fällt die Färbung mit Naphthoresorzin statt Resorzin aus. Sehr charakteristisch ist das mit Methylphenylhydrazin in schwach alkoholischer Lösung nach 5 bis 10 Minuten langem Erwärmen auf dem Wasserbade nur mit Fruktose, nicht aber mit Dextrose entstehende, bei 158—160° schmelzende, in Nadeln kristallisierende Osazon.

Der *Nachweis von Inosit* gelingt am besten in der Weise, daß man die Substanz mit einigen Tropfen $CaCl_2$-Lösung zur Trockene verdampft, den Rückstand mit Salpetersäure befeuchtet und wieder verdampft, wobei eine rosenrote Färbung auftritt.

Rohrzucker liefert die Proben auf die ihn konstituierenden Monosen, Dextrose und Lävulose, nicht direkt, sondern erst nach der Hydrolyse,

die man durch Kochen mit einigen Tropfen Salzsäure vornimmt, worauf abgekühlt und mit Soda neutralisiert wird.

Maltose kann am besten durch die Entstehung ihres Osazons bei 1½ stündigem Erhitzen mit Phenylhydrazin im Wasserbade erkannt werden; dasselbe fällt jedoch nicht schon beim Erhitzen, sondern erst während des nachfolgenden Erkaltens aus, kristallisiert in gelben Nadeln und schmilzt bei raschem Erhitzen bei 206 ^{0}. Man kann das Maltosazon, das in Azeton leichter löslich ist als andere Osazone, durch Ausschütteln mit 50 prozentigem Azeton aus einem Osazongemisch isolieren. Am bequemsten zum Nachweis aller Zuckerarten ist wohl ihr Drehungsvermögen im Polarisationsapparat, es soll aber auf diese Methode hier nicht eingegangen werden, da in pflanzenphysiologischen Laboratorien nur selten gute Polarimeter vorhanden sind, und es sei diesbezüglich auf die Spezialwerke verwiesen.

Rohrzucker und *Fruktose* kann man von *Glukose schnell unterscheiden*, indem man in die kalten Lösungen dieser Zuckerarten in der Eprouvette einige Kubikzentimeter konzentrierter Schwefelsäure am Rande so langsam einfließen läßt, daß die Flüssigkeiten zwei übereinanderstehende Schichten bilden. Bei Gegenwart von Fruktose und Rohrzucker färbt sich die Berührungszone braun, bei Traubenzucker nicht. Ganz ähnlich ist Fruktose auch gegen Alkalien viel empfindlicher, färbt sich mit Natronlauge sofort braun, während Traubenzucker während dieser Zeit bloß Gelbfärbung zeigt, wird mit $Ba(OH)_2$ sofort gelb, während Dextrose längere Zeit nicht verändert wird.

Auf der Bildung von Furfurol beruht die Reaktion von Molisch, bei welcher zur Probelösung einige Tropfen einer 10—20 prozentigen alkoholischen α-Naphthollösung und dann vorsichtig einige Kubikzentimeter konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt werden, die sich am Boden der Eprouvette ansammelt. Bei Gegenwart von Lävulose, Rohrzucker bildet sich sogleich eine violette Zone in der Kälte, bei anderen Zuckern tritt diese Färbung beim vorsichtigen Mischen oder leichten Erwärmen in der ganzen Flüssigkeit auf; bei Verwendung von Thymol statt Naphthol ist die auftretende Färbung zinnoberrot. Beim Kochen mit Naphthoresorzin, Salzsäure und Wasser geben die Aldosen Glukose, Mannose, Galaktose nach Rorive und Tollens dunkle Absätze, welche nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Wasser sich in Alkohol zu mißfarbigen, bei Galaktose zu lilafarbigen Flüssigkeiten lösen, die eine grüne Fluoreszenz zeigen. Im Spektralapparat erscheint im Grün ein Band und, von der Galaktose herrührend, daneben ein Band in Gelb, dessen Mitte auf der *D*-Linie liegt. Wenn Lävulose gleichzeitig zugegen ist, zeigt sich dieses Band nicht, wohl aber, wenn man vor dem Zusatz von Naphthoresorzin mit HCl 1 : 1 eine halbe Stunde im Wasserbade gekocht und die Flüssigkeit dann unter Zusatz von etwas Blutkohle filtriert hat.

Um *Fruktose* durch die Phenylhydrazinmethode *von den übrigen Zuckerarten zu trennen*, läßt man die mit Methyl-Phenylhydrazin versetzte Flüssigkeit ohne Essigsäure zunächst 24 Stunden stehen, saugt das etwa ausgeschiedene Mannose- oder Galaktose-Methylphenylhydrazon ab und versetzt dann mit Essigsäure, worauf das Methylphenyl-Osazon der Fruktose beim Erhitzen ausfällt. Wenn sich *Fruktose neben Glukose* findet, kann man sie nach der Methode von Sieben in der Weise bestimmen, daß man zunächst in einer Probe, etwa mit Fehlingscher

Lösung beide Hexosen bestimmt, dann eine andere Menge der Flüssigkeit mit 20 ccm conc. HCl auf 100 ccm der betreffenden Flüssigkeit 150 Minuten auf dem kochenden Wasserbade erhitzt, wobei die Fruktose zerstört, die Dextrose aber nur sehr wenig angegriffen wird. Nach dem Neutralisieren bestimmt man wieder den Zuckergehalt und rechnet die Differenz auf Fruktose. Wird die Kochdauer und die Konzentration der Säure genau eingehalten, so gibt die Methode, wie ich aus eigener Erfahrung weiß, befriedigende Resultate. Durch Kombination der Fällungsmethoden mit der Polarisation kann man bisweilen ebenfalls die Bestimmung vornehmen.

Zur quantitativen Analyse der Zuckerarten sind die maßanalytischen Kupfermethoden und die jodometrische Bestimmung am zweckmäßigsten.

I. *Maßanalytische Methoden* nach J. Bang: Bei Gegenwart von Rhodankali wird alles in einer Lösung vorhandene Kupfersalz als Kupferrhodanür ausgeschieden, wenn die Lösung nur Alkalikarbonate, keine Alkalihydroxyde enthält. Es bildet sich also, wenn man zu einer Kupfersalz enthaltenden Lösung, die Alkalikarbonat im Überschuß führt, eine Rhodankali enthaltende Lösung fügt, eine quantitative Ausfällung von Kupferrhodanür. Nun hat der Zucker die Eigenschaft, das Kupfersalz zu reduzieren, so daß die blaue Lösung farblos wird. Nach Bang verwendet man aber nur so viel Zuckerlösung, daß die Flüssigkeit überschüssiges Kupfersalz enthält, also blaugefärbt bleibt, worauf man den Überschuß, das nicht verbrauchte Kupfer, durch Hydroxylaminlösung bis zur Entfärbung zurücktitriert. 1 ccm Hydroxylaminsulfat entspricht genau 1 ccm Kupferlösung, wenn genau 6,55 g des Hydroxylaminsulfats in 2000 ccm Wasser gelöst sind. Die Lösung I enthält 12,5 g chemisch reines Kupfersulfat, 250 g Kaliumkarbonat, 200 g Rhodankali, 50 g Kalibikarbonat und 1000 ccm Wasser. Man löst die Salze bis auf das Kupfervitriol unter Erwärmen in zirka 600 ccm Wasser und läßt nachdem Abkühlen das in zirka 75 ccm Wasser gelöste Kupfervitriol langsam in dünnem Strahle zufließen, wobei man fortwährend umrührt. Man füllt auf 1000 ccm auf und filtriert nach 24 Stunden von dem gewöhnlich reichlich ausgeschiedenen kristallinischen Niederschlag ab. Die Maße und Reihenfolge der Operationen sind genau einzuhalten. Die Lösung ist höchstens vier Wochen haltbar; ferner ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Lösungen beim Zusammenschütten nicht über Zimmertemperatur warm sind. Lösung II enthält 6,55 g Hydroxylaminsulfat (auf der analytischen Wage gewogen), 200 g Rhodankali und 2000 ccm Wasser. Es ist zweckmäßig, die beiden Lösungen vor dem Gebrauch gegeneinander einzustellen. Die genau mit der Pipette entnommene Zuckerlösung (sie muß so verdünnt werden, daß die reagierende Quantität die Kupferlösung beim Kochen nicht zur Entfärbung bringt, was man im Vorversuch feststellt, um eventuell die Zuckerlösung vorher zu verdünnen) wird in einem kleinen, breithalsigen Kölbchen mit 50 ccm der Lösung I vermischt, die man aus der Bürette entnimmt, und die Mischung genau 3 Minuten (vom Beginn des Siedens) am Drahtnetz gekocht, dann sofort unter der Wasserleitung auf Zimmertemperatur abgekühlt und mit Lösung II auf Entfärbung oder die ursprüngliche Färbung des zuckerhaltigen Extraktes titriert. Enthält die Zuckerlösung mehr als

60 mg in 10 ccm, so werden 50 ccm von Lösung I vollkommen reduziert; man muß daher weniger als 10 ccm verwenden.

Tabelle zur Berechnung der Zuckermenge.

Hydroxylamin ccm	Zucker mg	Hydroxylamin ccm	Zucker mg	ccm Hydroxylamin	Zucker mg	Hydroxylamin ccm	Zucker mg
—	—	32,45	16	19,35	31	8,20	46
—	—	31,50	17	18,55	32	7,65	47
—	—	30,55	18	17,75	33	7,05	48
—	—	29,60	19	16,95	34	6,50	49
43,85	5	28,65	20	16,15	35	5,90	50
42,75	6	27,75	21	15,35	36	5,35	51
41,65	7	26,85	22	14,60	37	4,75	52
40,60	8	26,00	23	13,80	38	4,20	53
39,50	9	25,10	24	13,05	39	3,60	54
38,40	10	24,20	25	12,30	40	3,05	55
47,40	11	23,40	26	11,50	41	2,60	56
36,40	12	22,60	27	10,90	42	2,15	57
35,40	13	21,75	28	10,20	43	1,65	58
34,40	14	21,00	29	9,50	44	1,20	59
33,40	15	20,15	30	8,80	45	0,75	60

Die eben beschriebene Bangsche [1]) Methode hat vor allem den großen Vorteil, sehr expeditiv zu sein und eine durchgreifende vorgängige Enteiweißung des Extraktes unnötig zu machen; indessen zeigt sie mehrere große Nachteile, vor allem, daß die Reagenzien, von denen ja ziemlich viel verbraucht wird (50 ccm Kupferlösung für eine Bestimmung), teuer sind; ferner daß die Kupferlösung im Verlauf von drei Monaten ihren Titer völlig ändert und unbrauchbar wird, und schließlich, daß die Vorschriften für die Bereitung der Lösungen ziemlich genau eingehalten werden müssen, will man zu richtigen Werten gelangen. Setzt man z. B. die Kupfersulfatlösung vor Auflösung der Salze dem Rhodankali zu, so wird der Titer falsch, das Kupfersulfat muß exakt auf der analytischen Präzisionswage gewogen werden und genau in 75 ccm aufgelöst sein (ein Auflösen in 100 ccm bedingt schon beim folgenden Zusatz die Rhodanlösung einen falschen Titer). Schließlich ist der Umschlag von Blau zu farblos bei reinen, farblosen Zuckerlösungen wohl äußerst prägnant, nun haben wir es aber fast immer mit mehr oder weniger braun gefärbten Säften zu tun, bei denen Mischfarben eine Rolle spielen können. Die Bangsche Methode ist aber durch neue Vorschriften und durch Ausarbeitung eines anderen Analysenganges wesentlich verbessert worden [2]). Zunächst läßt sich das kostspieligere Rhodankali durch Chlorkali ersetzen, mit dem das Kupferoxydul ebenfalls eine farblose Verbindung liefert, wodurch auch die Haltbarkeit der Kupferlösung eine unbegrenzte wird, der Titer bleibt unverändert. Allerdings ist folgendes zu bedenken: KCl vermag nur relativ geringe Kupferoxydulmengen in Lösung zu halten, nämlich eine höchstens 20 mg Zucker entsprechende (gegen 60 mg bei KCNS), so daß man die Zuckerlösung, welche man zu bestimmen wünscht, so

[1] J. Bang, Zur Methodik der Zuckerbestimmung Biochem. Zeitschr. 2, 271 (1906).

[2]) J. Bang, Zur Methodik der Zuckerbestimmung II. Biochem. Zeitschr. 49, 1 (1913).

weit verdünnen muß. Ein großer Vorteil der neuen Methode besteht aber darin, daß man nicht wie früher das nicht reduzierte Kupferoxydul bestimmt und daraus das vom Zucker reduzierte indirekt berechnet, sondern direkt das vom Zucker reduzierte titriert; das bedeutet soviel, daß man nun nicht mehr nötig hat, den Titer der Kupferlösung genau einzustellen, sondern bei Bereitung der Kupferlösung die Salze auf der Handwage grob abzuwägen braucht. Die Titrierflüssigkeit besteht in einer $\frac{n}{100}$ bzw. $\frac{n}{10}$ oder $\frac{n}{25}$ Jodlösung. Man braucht folgende Lösungen: 1. Die Kupferlösung. 160 g $KHCO_3$, 100 g K_2CO_3 und 66 g KCl werden mit 700 ccm Wasser in einem Literkolben gelöst; das Bikarbonat muß zu diesem Zwecke fein gepulvert und zuerst unter Erhöhung der Temperatur auf zirka 30 ^{0} C in Lösung gebracht werden, dann wird das KCl und schließlich (unter schwacher Abkühlung) das Karbonat gelöst. Jetzt fügt man 100 ccm einer 4,4 prozentigen Lösung von $CuSO_4 + 5\,H_2O$ hinzu und füllt, bis die schwache CO_2-Entwicklung vorüber ist, bis zur Marke auf. Die Lösung darf nur leise geschüttelt werden, weil sie sonst zuviel Luft absorbiert, und erst nach 24 stündigem Stehen verwendet werden. Diese Lösung ist die Kupferstammlösung, von ihr werden 300 ccm mit gesättigter KCl-Lösung auf 1000 ccm verdünnt; auch hier darf man nur leise schütteln und die Lösung für exakte Bestimmungen erst nach mehrstündigem Stehen verwenden. 2. Die zum Titrieren bestimmte Jodlösung. Eine Kupferoxydlösung wird durch JK unter Bildung von freiem J reduziert: $CuCl_2 + KJ = CuCl + KCl + J$; diese Reduktion findet aber nur in saurer Lösung statt, in alkalischer Lösung wirkt das freigewordene Jod oxydierend unter Bildung von Kupferoxyd: $CuCl + J + K_2CO_3 = CuCO_3 + KCl + JK$. Eine durch Verdünnung einer $\frac{n}{10}$ Jodlösung hergestellte $\frac{n}{100}$ Jodlösung hält sich, in einer dunkelgefärbten Flasche aufbewahrt, unverändert monatelang; man kann sie aber auch für den täglichen Gebrauch herstellen, indem man zirka 1 ccm einer 2 prozentigen Kaliumbijodatlösung in ein 100 ccm-Meßkölbchen gießt, 2—2,5 g JK und genau 10 ccm $\frac{n}{10}$ HCl zusetzt, wodurch eine der Salzsäure äquivalente Jodmenge frei wird und sich in dem überschüssigen Jodkali auflöst, worauf man mit Wasser bis zur Marke auffüllt. 3. Stärkelösung als Indikator. Allerdings wird die sich oxydierende farblose Kupferoxydullösung auch blau, ebenso wie die Jodstärke blau ist, aber bei den 50 ccm der 10 mg Zucker entsprechenden verdünnten Kupferlösung ist die Farbe himmelblau, während die Farbe der Jodstärke tiefschwarzblau ist, wodurch beide auffallend kontrastieren. Das ist schon bei einer $\frac{n}{100}$ Jodlösung der Fall und verstärkt sich mit steigender Konzentration der angewendeten Jodtiterflüssigkeit. 26,5 ccm einer $\frac{n}{100}$ Jodlösung entsprechen 10 mg Zucker oder durchschnittlich 2,67 ccm einem Milligramm Zucker. Der größte Vorteil der beschriebenen Methode ist, abgesehen von der größeren Genauigkeit der Jodometrie, daß hier Störungen durch Extraktfarben nicht vorkommen können, da man ja nicht auf „farblos" titriert. Be-

sondere Sorgfalt muß auf die Verhinderung der Luftoxydation (Blaufärbung) während des Abkühlens verwendet werden. Man benutzt ein Jenaerkölbchen von 100 ccm Inhalt mit geradem Hals ohne Rand. Die Zuckerlösung (0,1—2 ccm oder mehr, je nach der Konzentration) und später die Kupferlösung (55 ccm) werden in das Kölbchen eingeführt (55 ccm Kupferlösung entsprechen bei vollständiger Entfärbung 10 mg Zucker). Jetzt zieht man einen Gummischlauch von 4—5 cm Länge über den Kolbenhals, so daß der Kautschuk fest anliegt und noch etwa 2 cm überragt. Man kocht drei Minuten, setzt aber, wenn noch einige Sekunden fehlen, einen stark federnden Quetschhahn nach Mohr über den Schlauch, klemmt nach vollen drei Minuten zu und nimmt augenblicklich das Kölbchen von der Flamme, kühlt unter der Wasserleitung bis auf Zimmertemperatur, nimmt den Gummischlauch ab, setzt ½—1 ccm Stärkelösung zu (1 g lösliche Stärke in 100 ccm gesättigter KCl-Lösung, unbegrenzt haltbar) und titriert mit der Jodlösung bis zum Umschlag in Tiefblau. Anfangs wird das Jod momentan verbraucht; die Schnelligkeit der Färbung bietet ein ungefähres Maß dafür, wieviel Jodlösung man im Strahl zufließen lassen kann. Wenn die Jodstärkefärbung erscheint, muß man das Kölbchen einmal leise umschütteln und ruhig einige Augenblicke abwarten; in der Nähe des Umschlagpunktes hält die Färbung 2 bis 3 Sekunden an und geht dann zurück: der Endpunkt ist erreicht, wenn die Jodstärkefärbung mindestens 5—10 Sekunden andauert. Das Wichtigste ist die Verhinderung der Luftoxydation beim Abkühlen. Zu diesem Zweck bedient man sich folgender Vorrichtung (Fig. 58): Nach Befestigung des Gummischlauches *S* am Kölbchen K wird der abgebildete Apparat daran angebracht. Ein Metallbügel, der oben einen Keil *B* trägt, wird am Kolbenhals befestigt, und nach beendigtem Kochen wird der Bügel von den beiden Korkplatten *C* aus einen Moment zugedrückt, der Keil springt dann sofort herunter und der Gummischlauch schließt luftdicht; nach der Abkühlung hebt man den Keil wieder, indem man zugleich bei *B* zudrückt. Die Korkplatten dienen zugleich zum Halten des heißen Kölbchens. Einfacher ist es, sich eines breiten Federquetschhahnes zu bedienen, der im Moment der Beendigung des Kochens über den Schlauch geschoben und vor dem Titrieren soweit geöffnet wird, daß die ausgezogene Spitze der Bürette in den Schlauch und Kolbenhals eingeführt werden kann; der Quetscher liegt am Bürettenhals eng an und verschließt den Kolben bis auf den schmalen Büretteneingang, gleichzeitig wird durch diese Vorrichtung ein energischeres Schütteln des Kölbchens unmöglich. Wichtig ist auch die Intensität der Erwärmung, welche so geleitet sein soll, daß die Kupferlösung in zirka 3½ Minuten zum Kochen gelangt, von welchem Moment an sie genau 3 Minuten im Kochen erhalten werden muß. Nach Abklemmen des Schlauches setzt sich das Kochen wegen der Luftdruckverminderung auch beim Abkühlen noch ½ Minute fort. Der Umschlag der Färbung erfolgt bei $\frac{n}{100}$ Jodlösung auf 2—4 Tropfen,

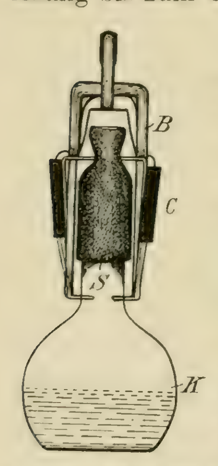


Fig. 58. Bangsches Kölbchen zur Zuckertitration.

bei $\frac{n}{25}$ Jodlösung schon auf e i n e n Tropfen hin, der Fehler übersteigt nicht $\pm$ 0,2 mg Zucker; die Reduktion verläuft, wie die folgende Tabelle zeigt, bis auf die beiden letzten Werte proportional mit der Zuckermenge, bei 10 mg Zucker wird alles Kupferoxyd verbraucht, die Flüssigkeit also ganz entfärbt. Für praktische Zwecke, wo es nicht auf sehr große Genauigkeit ankommt, ist eine Indextabelle überflüssig, man braucht nur die gefundenen Kubikzentimeter Jodlösung durch den Faktor 2,7 zu dividieren, um den Zucker in Milligrammen zu bestimmen. Man kann mit der beschriebenen Methode sehr genau Zuckermengen von 0,1—10 mg bestimmen. Will man $\frac{n}{10}$ Jodlösung benutzen, so ist es zweckmäßig, sich einer in $^1/_{50}$ ccm geteilten Bürette zu bedienen. Die mittels $\frac{n}{10}$ Jodlösung gefundenen Werte sind fast genau zehnmal kleiner als die mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung gefundenen, der Divisionsfaktor ist in dem ersteren Falle 0,285, im letzteren 2,70, bei $\frac{n}{25}$ Jodlösung $0,28 \cdot 2,5 = 0,7$. Die Kupferlösung bietet ferner den Vorteil, daß sie in kaum nennenswertem Grade von anderen Stoffen als Zucker reduziert wird, wichtig ist aber, daß die zu prüfende Lösung k e i n E i w e i ß enthalten darf, also vorher, etwa mit Bleiazetat, enteiweißt und das Blei mit Na_2SO_4 entfernt werden muß. Andere jodbindenden Stoffe kommen bei Pflanzenextrakten kaum in Betracht, sie stören aber auch die Titration nicht, wenn man darauf Rücksicht nimmt, daß die Titration als beendigt anzusehen ist, wenn die Jodstärkefärbung 10—20 Sekunden andauert, eine langsame, nachschleppende, auf jodbindende Stoffe zu beziehende Entfärbung aber nicht beachtet.

Dextrose mg	$\frac{n}{100}$	$\frac{n}{25}$	$\frac{n}{10}$ ccm Jodlösung
1	2,60	0,73	0,30
2	5,25	1,45	0,58
3	8,10	2,20	0,86
4	10,85	2,95	1,15
5	13,55	3,65	1,46
6	16,25	4,15	1,73
7	18,85	4,85	2,01
8	21,40	5,50	2,31
9	23,60	6,20	2,51
10	25,65	6,95	2,80

Mitunter kommt es darauf an, in Pflanzensäften *neben Dextrose auch Fruktose* zu bestimmen. Selbstredend kann die B a n g sche Methode ebenso wie zum quantitativen Nachweis von Dextrose auch für den der Fruktose Anwendung finden; liegen aber beide vor — und es gibt wohl keinen zuckerhaltigen Pflanzenextrakt, in welchem nicht beide vorlägen, und selbst bei der Hydrolyse von Inulin, dem Polysaccharid der Fruktose, entsteht neben dieser Monose Dextrose im Verhältnis 11 : 1, offenbar wegen der überaus leichten Überführung der einen in die andere durch hydrolysierende Agenzien —, dann bestimmt man natürlich auf

diese Weise beide zusammen. Eine Möglichkeit, Fruktose neben Glukose zu bestimmen — zu absolut exakten Werten gelangt man wegen der genannten leichten Umwandelbarkeit niemals —, gibt die Methylphenylhydrazinmethode von Neuberg, mit welcher es mir mikrochemisch oft gelungen ist, beide Monosen wenigstens nebeneinander sichtbar zu machen. 10—11 ccm der ziemlich konzentrierten Zuckerlösung bringt man mit überschüssigem Methylphenylhydrazinchlorhydrat, das in Alkohol gelöst ist, und einer gleichen Quantität konzentrierter Natriumazetatlösung eine halbe Stunde aufs Wasserbad, läßt dann erkalten, wäscht am nächsten Tag mit Wasser aus, trocknet nach dem Abfiltrieren das gebildete schwer lösliche Fruktose-Methylphenylosazon $C_6H_{10}O_4 \cdot \left(N_2 \langle {C_6H_5 \atop CH_3}\right)_2$ und wägt. Unter diesen Bedingungen (nicht zu langes Erwärmen und nicht zu langes Stehen) gibt nur die Fruktose, nicht aber die Dextrose ein schwerlösliches Osazon.

Sehr gute Resultate bei Einhaltung der Bedingungen erhielt ich mit der Methode von Sieben, Zerstörung der Fruktose durch Kochen mit konzentrierter Salzsäure. Man verwendet eine Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·12, versetzt je 100 ccm der Flüssigkeit mit 20 ccm derselben und kocht drei Stunden lang am siedenden Wasserbad. Glukose wird durch dieses Verfahren kaum angegriffen. Hat man vorher die Summe der Monosen bestimmt und wiederholt man (nach Abfiltrieren der gebildeten Huminsubstanzen) die Bestimmung, so kann man aus der Differenz die vorhanden gewesene Fruktose berechnen. Die Zerstörung der Fruktose beginnt sehr bald, aber die Geschwindigkeit der Zerstörung verringert sich später ungemein, so daß sie praktisch tatsächlich erst nach dreistündiger Kochdauer beendigt ist; durch längeres Kochen wurde auch die Glukose merkbar angegriffen. Auf diese Verhältnisse muß man auch beispielsweise bei der Hydrolyse von Inulin Rücksicht nehmen; bei einiger Übung kann man diese über Asbestnetz auf offener, mäßiger Bunsenflamme vornehmen, was bei der Siebenschen Zerstörung absolut vermieden werden muß; aber auch hier beginnt schon nach einer Kochdauer von zehn Minuten (bei 100 ccm einer zirka einprozentigen Lösung) die Zerstörung der Lävulose, nachdem die Hydrolyse innerhalb dieser Zeit vollkommen beendigt ist.

Einigermaßen genauere Resultate, wenn auch auf recht umständlichem Wege, der übrigens auch nicht immer zu exakten Werten führt, gibt eine Kombination der maßanalytisch gefundenen Werte mit der Polarisationsmethode, worauf ich aber hier nicht eingehen kann.

Zu der quantitativen Bestimmung mehrerer Zuckerarten nebeneinander übergehend, möchte ich als Beispiel eine Analyse von Boysen-Jensen[1]) anführen: „Die keimenden Samen (in Portionen von 20 g) wurden unter Zusatz von 2 g Bariumkarbonat (zur Neutralisation der Hydrolyse bewirkenden Pflanzensäuren) im Mörser fein zerrieben und in einem gewogenen 250 ccm fassenden Erlenmeyerkölbchen mit 200 g 70 prozentigen Alkohols übergossen. Nachdem die Kölbchen im Wasserbade aufgekocht waren, wurden sie zirka acht Tage bei Zimmertemperatur hingestellt und dann wieder gekocht, womit die Extraktion als beendet zu betrachten ist. Das Gewicht der Flüssigkeitsmenge kann mit

[1] P. Boysen-Jensen, Über die synthetischen Vorgänge im pflanzlichen Organismus I. Die Rohrzuckersynthese, Bioch. Zschr. 40, 424 (1912).

215 g (Alkohol + Wassergehalt + alkohollösliche Verbindungen des Materials) hinlänglich genau angenommen, im übrigen jeder dieser Werte für das verwendete Material durch vorgängige Bestimmungen festgestellt werden. Nach erneuter Wägung und Ersatz des verdunsteten Alkohols werden 150 g vom Extrakt abfiltriert, auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft und der Rückstand in 45 ccm Wasser gelöst. Dazu 5 ccm einer 10 prozentigen, schwach essigsauren Bleiazetatlösung zugesetzt, um die Eiweißstoffe zu fällen, von dem jetzt 50 ccm betragenden Volumen der Flüssigkeit 40 ccm abfiltriert und zum Entbleien 10 ccm einer 10 prozentigen Na_2SO_4-Lösung zugesetzt. Es werden wieder 40 ccm (zweckmäßig über doppeltem quantitativen Filter) abfiltriert, das Filtrat neutralisiert (mit Soda) und auf ein Volumen von 50 ccm gebracht. Von dieser Flüssigkeit werden je 10 ccm für die einzelnen Bestimmungen verwendet und die gewonnenen Zahlen mit dem Faktor $\frac{215 \cdot 5 \cdot 5 \cdot 5}{150 \cdot 4 \cdot 4} = 11{,}2$ multipliziert, um auf die Gesamtmenge des Materials umzurechnen. Die Flüssigkeit enthält nun alle in 70 prozentigem Alkohol löslichen Zuckerarten, von denen in Keimpflanzen wohl nur Dextrose, Lävulose, Saccharose, Maltose eine Rolle spielen.

Maßanalytische Methode von Fehling-Soxhlet. Lösung I: Chemisch reines Kupfervitriol wird zur vollständigen Reinigung einmal aus verdünnter Salpetersäure und dreimal aus Wasser umkristallisiert. Man sorgt durch Rühren mit dem Glasstab dafür, daß sich keine großen Kristalle bilden, saugt dieselben ab und trocknet sie zwischen Filtrierpapier; von den lufttrockenen Kristallen werden 34,639 g in destilliertem Wasser aufgelöst und in einem 500 ccm-Meßkolben bis zur Marke aufgefüllt.

Lösung II: Seignettesalz (Kali-Natrontartrat) wird ebenso dreimal aus Wasser umkristallisiert, dann in 400 ccm Wasser gelöst und 100 ccm NaOH dazugefügt, in welcher 516 g Natriumhydroxyd auf den Liter gelöst sind. Wenn man sich Lösung II nicht zu jedem Versuch frisch herstellen will, muß man Seignettesalz und Natronlösung in getrennten Gefäßen aufbewahren, letztere in einer dunkeln Flasche, deren Korkstöpsel in einer Bohrung ein Natronkalkrohr zum Abhalten der Luftkohlensäure trägt.

Man stellt zunächst einen Vorversuch an, indem man 25 ccm der Lösung I und 25 ccm der Lösung II, die man mit Pipetten entnommen hat, in der Porzellanschale mischt, zum Kochen erhitzt und nun aus einer Meßbürette, welche oberhalb der Porzellanschale angebracht ist, nach und nach so viel von der Zuckerlösung zusetzt, bis die Flüssigkeit nicht mehr blau erscheint. 50 ccm Fehlingscher Lösung reduzieren 23,75 ccm einer einprozentigen Traubenzuckerlösung, 24,7 ccm einer einprozentigen Invertzuckerlösung, 33,8 ccm einer einprozentigen Milchzuckerlösung, 25,5 ccm einer einprozentigen Galaktoselösung, 25,7 ccm einer einprozentigen Lävuloselösung, 38,9 ccm einer einprozentigen Maltoselösung. Daher kann man aus der Menge der gebrauchten Zuckerlösung annähernd ihren Gehalt berechnen. Darauf verdünnt man die Lösung so weit, daß sie nur 1 % Zucker enthält, und führt dann die eigentliche Probe durch:

Zu 50 ccm Fehlingscher Lösung setzt man zirka 23 ccm der ungefähr einprozentigen Zuckerlösung, welche Traubenzucker enthält,

respektive eine entsprechend größere Menge bei anderen Zuckerarten zu und kocht 2—6 Minuten, worauf man die ganze Flüssigkeit durch ein doppeltes Faltenfilter gießt. Sobald 3—5 ccm des Filtrates durchgegangen sind, säuert man dasselbe mit Essigsäure an und versetzt mit einem Tropfen gelben Blutlaugensalzes; tritt dunkle Rotfärbung ein, so sind noch größere Mengen Kupfers zugegen. Blaßrosafärbung deutet auf Spuren von Kupfer, und tritt keine Verfärbung ein, so ist alles Kupfer aus der Lösung ausgeschieden. In letzterem Falle nimmt man zum nächsten Versuch 1 ccm weniger, in den ersteren Fällen 1 ccm Zuckerlösung mehr. Man macht so viele Bestimmungen, bis zwei Bestimmungen nur um 0,1 ccm der zugesetzten Zuckerlösung differieren und das eine Filtrat eben noch kupferhaltig, das andere kupferfrei ist; zwischen beiden Zahlen liegt dann die zur Reduktion von 50 ccm Fehling hinreichende Zuckermenge. Man löst z. B. 100 g käuflichen Traubenzuckers in soviel Wasser, daß die Lösung 250 ccm ausmacht, und sind von dieser Lösung im Vorversuch 10 ccm erforderlich, um 50 ccm Fehling zu entfärben. Da, wie erwähnt, 50 ccm der Fehlingschen Lösung 23,75 ccm einprozentiger Traubenzuckerlösung entsprechen, so müßten 10 ccm unserer Lösung auf zirka 24 ccm oder 104,1 ccm auf 250 ccm aufgefüllt werden, um eine zirka einprozentige Lösung zu geben.

Von dieser Lösung werden zu 50 ccm Fehling zugesetzt:

1. 23,0 ccm, wobei das Filtrat schon durch seine grünliche Farbe das noch vorhandene Kupfer anzeigt;
2. 24,0 „ , auch hier ist das Filtrat noch grünlich;
3. 25,0 „ , worauf das Filtrat gelb ist und mit Ferrozyankali keine Reaktion gibt, zum Beweis, daß alles Kupfer ausgefällt, demnach im nächsten Versuch die Menge der Zuckerlösung vermindert werden muß;
4. 24,5 „ , Filtrat ist gelb, gibt aber mit Blutlaugensalz intensiv rote Ferrozyankupferreaktion;
5. 24,7 „ , geben ein gelbes Filtrat und blaßrosa Kupferreaktion;
6. 24,8 „ , gelbes Filtrat, keine Kupferreaktion mit Blutlaugensalz;

demnach liegt die exakte, gerade 50 ccm Fehling reduzierende Zuckermenge bei 24,75 ccm meiner Lösung; diese enthalten, da 50 ccm Fehling durch 23,75 ccm einer einprozentigen Traubenzuckerlösung reduziert werden, 237,5 mg Dextrose, und von dieser Zahl kann man durch einfache Proportionen auf die Menge des im verwendeten käuflichen Produkt vorhandenen Traubenzuckers schließen. Eventuell nimmt man bei sehr kleinem Zuckergehalt statt 50 ccm Fehling nur 20 ccm dieser, durch Mischung von je 10 ccm der beiden Titerlösungen hergestellten Titerflüssigkeit. Bei Pflanzenextrakten hat man es nicht selten mit gefärbten Lösungen zu tun und es ist dann oft schwierig, die Rotfärbung mit Blutlaugensalz deutlich zu erkennen. Man geht dann in der Weise vor, daß man das Filtrat in der Porzellanschale mit einigen Tropfen Zuckerlösung kocht, einige Minuten stehen läßt, die Flüssigkeit abgießt und nun den Boden der Schale mit einem Stückchen Filtrierpapier auswischt. War durch die zugesetzte Zuckerlösung etwa noch im Filtrat vorhandenes Kupfer reduziert worden, so ist das Papier durch Kupferoxydul rotbraun gefärbt.

Maßanalytische Methode nach Bertrand: Man

titriert mit Kaliumpermanganatlösung bestimmten Gehaltes das Ferrosalz, welches sich bei der Auflösung des beim Kochen mit Fehling gebildeten Kupferoxyduls in einer Lösung von Ferrisulfat in Schwefelsäure gebildet hat. Die vier Lösungen, welche hier notwendig sind, werden folgendermaßen bereitet:

I. 40 g umkristallisiertes Kupfervitriol in 1000 ccm Wasser gelöst;
II. 200 ,, umkristallisiertes Seignettesalz, 150 g gereinigtes Ätznatron in Stangen, 1000 ccm Wasser;
III. 50 ,, reines Ferrisulfat, 200 ccm konzentrierte Schwefelsäure, 1000 ccm Wasser;
IV. 5 ,, Kaliumpermanganat in 1000 ccm Wasser.

Zunächst muß der Titer der Permanganatlösung durch Einstellen auf Ammonoxalat bestimmt werden, indem man zirka 0,250 g $(COO)_2 \cdot (NH_4)_2$ mit 100 ccm Wasser und 2 ccm konzentrierter H_2SO_4 auf zirka 80° erwärmt. Von der Permanganatlösung läßt man zu der heißen Lösung tropfenweise zulaufen, bis eben bleibende Rosafärbung eintritt; für 250 mg Ammonoxalat braucht man annähernd 22 ccm. Nach den Reaktionsgleichungen ist ein Molekül Ammoniumoxalat 2 Fe respektive 2 Cu äquivalent. Multipliziert man die Menge des verwendeten oxalsauren Ammons, also hier 0,25 g mit dem Faktor 0,8951, so erhält man die Kupfermenge, welche der bis zur Rosafärbung gebrauchten Permanganatlösung entspricht. 1 Liter der Lösung entspricht rund 10 g Kupfer. Man multipliziert die bei der Analyse erhaltenen Kubikzentimeter Permanganat mit rund 10,17, um den Kupferwert in Milligrammen zu finden, vorausgesetzt, daß man zur Titerstellung 250 mg Ammonoxalat verwendet hat. In ein Erlenmeyerkölbchen von zirka 150 ccm Inhalt läßt man 20 ccm der Zuckerlösung aus der Bürette einfließen, fügt dazu je 20 ccm von Lösung I und II, erhitzt zum Kochen und läßt unter zeitweiligem Umschwenken drei Minuten lang kochen; das Kupferoxydul, welches sich dabei bildet, läßt man absitzen und bringt die Flüssigkeit, welche nach dem Kochen noch blau gefärbt sein muß (ist sie es nicht, so nimmt man im nächsten Versuch weniger von der Zuckerlösung), auf ein Asbestfilterröhrchen nach Soxhlet, ein zylindrisches, unten eingeschnürtes Röhrchen, das oberhalb der Einschnürung mit einer dünnen Lage aufgeschwemmten Asbests belegt ist und mit dem verschmälerten Teil in den Pfropfen eines Absaugekolbens gesteckt werden kann, wobei man darauf achtet, daß möglichst wenig von dem Oxydulniederschlag mit auf das Filter gelange. Nachdem man die Flüssigkeit abgesaugt hat, wird der Niederschlag mit destilliertem Wasser gewaschen und auch das Waschwasser über das Filter gegossen. Das Filter wird dann vom Absaugekolben entfernt und dieser mit destilliertem Wasser gewaschen, so daß keine Spur Kupfersulfat darin zurückbleibt. Zu dem im Erlenmeyerkolben verbliebenen Kupferniederschlag bringt man 20 ccm Ferrisulfatlösung, worauf sich der Niederschlag mit schön grüner Farbe auflöst. Diese Lösung schüttet man über das in der Saugflasche wieder befestigte Asbestfilter und saugt langsam durch, dabei löst sich auch der auf dem Asbestfilter befindliche geringe Rest von Kupferoxydul, eventuell läßt man, falls sich nicht alles gelöst hätte, noch etwas mehr von Lösung III durchlaufen. Durch Nachwaschen von Kölbchen und Filter bekommt man den letzten Rest der Lösung in die Saugflasche, die man nun unter die Bürette mit der Permanganat-

lösung bringt, und titriert bis zum scharfen Umschlag von Grün in Rosa. Die verwendeten Kubikzentimeter Permanganatlösung werden mit dem Faktor multipliziert, wobei das dem Permanganat entsprechende Kupfer resultiert, aus dem man beim Eingehen in die Tabelle die Zuckermenge bestimmt. Die Konzentration der Zuckerlösung soll 0,5 % nicht übersteigen.

Tabelle zur Bestimmung der Zuckermenge aus den Kupferwerten.

Zucker in mg	Cu in mg	Zucker in mg	Cu in mg	Zucker in mg	Cu in mg	Zucker in mg	Cu in mg	Zucker in mg	Cu in mg
10	20,4	29	57,2	48	91,8	67	124,7	86	155,6
11	22,4	30	59,1	49	93,6	68	126,4	87	157,2
12	24,3	31	60,9	50	95,4	69	128,1	88	158,8
13	26,3	32	62,8	51	97,1	70	129,8	89	160,4
14	28,3	33	64,6	52	98,9	71	131,4	90	162,0
15	30,2	34	66,5	53	100,6	72	133,1	91	163,6
16	32,2	35	68,3	54	102,3	73	134,7	92	165,2
17	34,2	36	70,1	55	104,1	74	136,3	93	166,7
18	36,2	37	72,0	56	105,8	75	137,9	94	168,3
19	38,1	38	73,8	57	107,6	76	139,6	95	169,9
20	40,1	39	75,7	58	109,3	77	141,2	96	171,4
21	42,0	40	77,5	59	111,1	78	142,8	97	173,1
22	43,9	41	79,3	60	112,8	79	144,5	98	174,6
23	45,8	42	81,1	61	114,5	80	146,1	99	176,2
24	47,7	43	82,9	62	116,2	81	147,7	100	177,8
25	49,6	44	84,7	63	117,9	82	149,3		
26	51,5	45	86,4	64	119,6	83	150,9		
27	53,4	46	88,2	65	121,3	84	152,5		
28	55,3	47	90,0	66	123,0	85	154,0		

Zur Vervollständigung möge auch die gravimetrische Methode der Zuckerbestimmung nach Pflüger Platz finden, welche eine Verbesserung der Fehling-Allihnschen vorstellt. Man verwendet zwei Lösungen, die getrennt aufzubewahren sind:

Lösung I: 34,639 g $CuSO_4 + 5\ H_2O$ in 500 ccm Wasser. Das Kupfersalz wird so, wie das für die maßanalytischen Methoden beschrieben wurde, umkristallisiert und getrocknet.

Lösung II: 173 g Seignettesalz und 125 g KOH in 500 ccm Wasser. Die Lösung wird in der Weise hergestellt, daß man in einem Becherglas 150 ccm Wasser zum Sieden erhitzt, vom Feuer entfernt, 173 g Seignettesalz hineinbringt und umrührt, bis Lösung erfolgt ist. Nach der Abkühlung gießt man die Lösung in einen 500 ccm-Kolben und fügt 280 ccm der 60 prozentigen Lauge hinzu. Das Waschwasser, mit dem man das Becherglas ausspült, wird zur Lösung hinzugefügt. Nach völliger Abkühlung bringt man genau auf 500 ccm, gießt in ein Becherglas und filtriert durch dichte Glaswolle in den Kolben zurück. Die Asbestfilterröhrchen werden folgendermaßen hergestellt: ein vertikales Glasrohr von 10 cm Länge und 1,7 cm lichter Weite läuft nach unten in eine Verjüngung und darauffolgende birnenförmige Erweiterung von 1 cm äußerem Durchmesser aus. An diese Erweiterung schließt sich nach einer abermaligen Verjüngung das 6 cm lange Abflußrohr. Die kleine Birne enthält den Asbest, der die Gestalt und Form einer dicken

Erbse hat. Die Füllung wird in folgender Weise hergestellt: langfaseriger, weicher Asbest wird mehrere Tage in roter rauchender Salpetersäure gehalten, dann sehr oft mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Wasser beim Umrühren des Asbests keine Spur von Trübung zeigt. Nach dem Trocknen werden weiche, langfaserige Stränge des Asbests mit der Präpariernadel auf einer Glasplatte in einzelne Fäden zerpflückt; eine größere Anzahl dieser Fäden wird zu einem Haufen zusammengeschoben und mit der Pinzette in das weite Ende des Filterröhrchens geschoben. Mit einem dickeren Draht drückt man die Fäden in die Birne hinein, ohne jedoch so fest zu drücken, daß die lockere Lagerung der Fäden verloren geht; die Birne wird so vollkommen mit Asbest ausgefüllt. Die richtige Beschickung des Röhrchens prüft man in folgender Weise: Die heiße Allihnsche Lauge wird, nachdem man sie mit kaltem Wasser auf die Hälfte verdünnt hat, an der Saugpumpe filtriert, mit 100 ccm Wasser gewaschen und dann Salpetersäure von 1,2 spezifischem Gewicht langsam über den Asbest gegossen. Darauf wird der Asbest gewaschen und schließlich mit absolutem Alkohol und Äther getrocknet. Nach dem Trocknen im Trockenschrank bei 100 ^{0} darf das Gewicht bei zwei aufeinanderfolgenden Wägungen nicht mehr als 0,3 mg verloren haben.

Man führt nun zunächst wieder einen Vorversuch durch, indem man 30 ccm der Lösung II aus einer Bürette in ein Becherglas fließen läßt und dazu, ebenfalls aus einer Bürette, 30 ccm von Lösung I fügt; dazu 85 ccm der vorher genau neutralisierten und filtrierten Zuckerlösung, so daß das Gesamtvolumen 145 ccm beträgt; dieses kocht man nun zwei Minuten am Drahtnetz. Dann gießt man 130 ccm Wasser dazu und wartet, bis alles ausgeschiedene Kupferoxydul sich abgesetzt hat. Die Flüssigkeit muß dann noch blau sein, sonst muß man in einer zweiten Probe nur halb soviel Zuckerlösung verwenden. Dann wird der eigentliche Versuch durchgeführt. Dieser wird in zwei Parallelproben gemacht. Zwei Bechergläser aus Jenaer Glas werden mit je 30 ccm von Lösung I und Lösung II sowie mit 85 ccm Zuckerlösung beschickt. Man mischt die Flüssigkeiten durch öfteres Umschwenken, deckt mit Uhrgläsern zu und bringt sie in zwei an einem Stativ angebrachte Kupferringe, in welche die Bechergläser hängend gerade hineinpassen, worauf man beide gleichzeitig bis über die Mitte in ein siedendes Wasserbad taucht, wo sie genau 30 Minuten kochen. Nach dem gleichzeitigen Herausheben gießt man in jedes 130 ccm kaltes Wasser. Inzwischen sind die Filterröhrchen gewogen, auf die Absaugekolben gebracht und diese mit der Pumpe verbunden worden; sie werden nun aus den Bechergläsern gefüllt und die Pumpe jeweils erst in Tätigkeit gesetzt, wenn die Filterröhrchen gefüllt sind. Sie dürfen nie trocken werden, und ferner ist darauf zu achten, daß möglichst wenig Niederschlag aus dem Becherglas auf das Asbestfilter gelangt. Nachdem die Flüssigkeit fast abfiltriert ist, gießt man 100 ccm Wasser in das Becherglas, wobei man es an einem Glasstabe entlang einlaufen läßt, dessen unteres Ende gegen den Boden des Becherglases gestemmt ist, der Niederschlag wird dann nicht aufgerührt. Nachdem auch dieses Wasser durchs Röhrchen filtriert worden ist, bringt man den Niederschlag quantitativ durch Abspritzen mit dem zu einer feinen Spitze ausgezogenen Röhrchen einer Spritzflasche aufs Filter und spült zweimal mit absolutem Alkohol und zweimal mit Äther nach. Dann werden die Röhrchen in den Trockenschrank gebracht,

eine halbe Stunde bei 110 ^{0} getrocknet, im Exsikkator abkühlen gelassen und gewogen. Dann befestigt man sie über zwei Kölbchen, gießt konzentrierte Salpetersäure bis oben auf und deckt mit einem Uhrglas zu. Die Salpetersäure löst das gesamte Kupfer auf, das sich jetzt als Kupfernitrat im Kolben befindet. Die Röhrchen werden dann an der Pumpe zweimal mit Wasser, zweimal mit Alkohol und Äther gewaschen und schließlich im Trockenschrank getrocknet. Die Wägung nach dem Erkalten im Exsikkator darf nur ganz unbedeutende Differenzen im Gewichte ergeben, worauf das Röhrchen zum nächsten Versuche fertig ist und so behandelt, unendlich lange Dienste leisten kann. Die Gewichte in den beiden Parallelröhrchen dürfen ebenfalls nicht um mehr als 1 mg untereinander differieren.

Tabelle zur Bestimmung von Zucker aus Kupferoxydul in Milligrammen:

Zucker	Kupferoxydul	Zucker	Kupferoxydul	Zucker	Kupferoxydul	Zucker	Kupferoxydul	Zucker	Kupferoxydul	Zucker	Kupferoxydul
12	36,8	52	129,4	92	220,8	132	309,6	172	391,5	212	465,7
13	39,2	53	131,7	93	223,1	133	311,8	173	393,5	213	467,4
14	41,6	54	134,0	94	225,4	134	313,9	174	395,5	214	469,2
15	43,9	55	136,3	95	227,6	135	316,0	175	397,5	215	471,0
16	46,3	56	138,6	96	229,9	136	318,1	176	399,3	216	472,8
17	48,7	57	140,9	97	232,2	137	320,2	177	401,2	217	474,6
18	51,0	58	143,2	98	234,5	138	322,4	178	403,1	218	466,3
19	53,4	59	145,1	99	236,7	139	324,5	179	404,9	219	478,1
20	55,8	60	147,8	100	239,0	140	326,6	180	406,8	220	479,9
21	58,1	61	150,1	101	241,2	141	328,7	181	408,7	221	481,7
22	60,5	62	152,4	102	243,5	142	330,8	182	410,6	222	483,5
23	62,9	63	154,7	103	245,7	143	333,0	183	412,4	223	485,2
24	65,2	64	157,0	104	247,9	144	335,1	184	414,3	224	487,0
25	67,6	65	159,3	105	250,2	145	337,2	185	416,2	225	488,8
26	69,9	66	161,6	106	252,4	146	339,3	186	418,1	226	490,4
27	72,2	67	163,9	107	254,6	147	341,4	187	419,9	227	492,1
28	75,5	68	166,2	108	256,8	148	343,6	188	421,8	228	493,7
29	76,8	69	168,5	109	259,1	149	345,7	189	423,7	229	453,3
30	79,1	70	170,8	110	263,3	150	347,8	190	425,6	230	497,0
31	81,3	71	173,0	111	263,6	151	349,8	191	427,4	231	498,6
32	83,6	72	175,3	112	265,8	152	351,8	192	429,3	232	500,3
33	85,9	73	177,6	113	268,0	153	353,0	193	431,2	233	501,9
34	88,2	74	179,9	114	270,2	154	355,7	194	433,1	234	503,5
35	90,5	75	182,2	115	272,5	155	357,7	195	434,9	235	505,2
36	92,8	76	184,5	116	274,7	156	359,7	196	436,8	236	506,8
37	95,1	77	186,7	117	276,9	157	361,7	197	438,7	237	508,4
38	97,4	78	189,0	118	279,2	158	363,7	198	440,6	238	510,1
39	99,7	79	191,3	119	285,4	159	365,7	199	442,4	239	511,7
40	101,9	80	193,6	120	283,6	160	367,7	200	444,3	240	172,3
41	104,2	81	195,8	121	285,9	161	369,6	201	446,1	241	515,0
42	106,5	82	198,1	122	288,1	162	371,6	202	447,9	242	516,6
43	108,8	83	200,4	123	290,3	163	373,6	203	449,6	243	518,2
44	111,1	84	202,6	124	292,6	164	375,6	204	451,4	244	519,9
45	113,4	85	204,9	125	294,8	165	377,6	205	453,2	245	521,5
46	115,7	86	207,2	126	296,9	166	379,6	206	455,0	246	523,6
47	118,0	87	209,5	127	299,0	167	381,6	207	456,8	247	524,8
48	120,2	88	211,7	128	301,2	168	383,5	208	458,5	248	526,4
49	122,5	89	214,0	129	303,3	169	385,5	209	460,3	249	528,1
50	124,8	90	216,3	130	305,4	170	387,5	210	462,1	250	529,7
51	127,1	91	218,6	131	307,5	171	389,5	211	463,9		

Um eine *Zuckerbestimmung in einem Pflanzenextrakt* durchzuführen, ist es zweckmäßig, zunächst eine Reinigung der Extrakte vorzunehmen. Eine Befreiung von in der Hitze koagulabeln Eiweißstoffen wird durch Aufkochen bewirkt, wobei man aber, um Inversion zu verhindern, zweckmäßig die etwa vorhandenen Pflanzensäuren vorher durch eine Messerspitze gepulverten Kalziumkarbonates abstumpft. Durch Aufkochen mit Kalk unter Einleiten von CO_2 und SO_2 bewirkt man außer einer Fällung der Eiweißstoffe auch das Niederschlagen von organischen Säuren und anderen Verunreinigungen, die man durch Filtrieren entfernen kann. Um suspendierte Trübungen zu vermeiden, die beim Filtrieren durch Papier mitgerissen werden, filtriert man durch poröse Tonfilter. Bedenklicher ist schon das Schütteln mit Tonerde oder mit Blutkohle oder Kaolin, weil diese Agenzien mit den Verunreinigungen auch Zucker mitreißen können. Vielfach gelangt man durch Schütteln der Flüssigkeit mit zerfasertem Filtrierpapier zum Ziele, welches durch Kochen in Wasser fein verteilt wurde. Die gebräuchlichste Methode der Reinigung ist jene mit Bleizucker oder Bleiessig (Bleiazetat durch Kochen in Wasser unter Zusatz von etwas Essigsäure gelöst), welcher mit den zu vermeidenden Verunreinigungen dicke, kolloidale, weißlichgraue Fällungen liefert. Die Filtrate werden durch Einleiten von Schwefelwasserstoff oder Versetzen mit Natriumsulfatlösung entbleit. Man stellt sich zweckmäßig molare Lösungen her, so daß man die zuzusetzenden Flüssigkeitsmengen ungefähr abmessen kann. Man achte auch hier darauf, gerade nur soviel von dem Fällungsmittel zuzusetzen, daß nachher beim Filtrieren eine klare Lösung entsteht; die Eiweißfüllung mit Bleiazetat kann man, am besten über doppeltem Filter, an der Wasserstrahlpumpe absaugen; der beim Entbleien gefällte Bleisulfatniederschlag geht aber regelmäßig durchs Filter mansoll ihn durch gewöhnliches doppeltes, glattes Filter abfiltrieren.

Die *Hydrolyse von zusammengesetzten Zuckerarten* bewirkt man entweder durch Enzyme, wie Invertin, Diastase, Inulase, oder meist durch Kochen mit verdünnter (1—5 prozentiger) Schwefel- oder Salzsäure. Sehr schwache Säure ist beispielsweise zur Zerlegung von Inulin in Fruktose nötig (ich verwende einprozentige Salzsäure bei nicht länger als höchstens 10 Minuten währender Kochdauer), ebenso zur Inversion von Rohrzucker, man muß Konzentration und Kochdauer so wählen, daß sich noch keine braungefärbten Nebenprodukte bilden. Dagegen muß man 5—8 prozentige Salzsäure und mehrstündige Kochdauer anwenden, um Hemizellulosen und Pentosane zu hydrolysieren. Dabei ist zu beachten, daß Salzsäure bei gleicher prozentischer Konzentration stärker wirkt als Schwefelsäure, die aber wiederum den Vorteil bietet, als unlösliches Sulfat leichter aus dem Hydrolysengemisch entfernt werden zu können. Salzsäure entfernt man durch Fällung mit Silberkarbonat oder Bleikarbonat.

Zur quantitativen Bestimmung von Pentosen und Pentosanen bedient man sich der Bildung von Furfurol aus diesen Zuckerarten beim Destillieren mit Salzsäure, Auffangen des überdestillierenden Furfurols in Phlorogluzin und Wägen des so entstandenen Phlorogluzids. Die Kochflasche, aus welcher destilliert wird, faßt zirka 300 ccm, ist weithalsig und trägt in ihrem doppelt durchbohrten Stöpsel das mit angeschmolzener, das Überspritzen verhindernder Kugel versehene, in den Kühler mündende Ableitungsrohr für die Dämpfe und ein mit

Hahn versehenes Aufsatzrohr zum Nachfüllen der Flüssigkeit, das bis tief in den Hals des Kochkolbens hineinreicht. Man bringt die zu untersuchende, abgewogene Probe von Stroh, Gummi, Holz u. dgl. in den Kolben, setzt 100 ccm zirka 12 prozentiger Salzsäure zu und erhitzt in einem Metallbad aus leicht schmelzbarem Metall, das den Kolben etwas über 100 ° erhitzt. Der Inhalt der eintauchenden Kochflasche gelangt in lebhaftes Sieden, und das gebildete Furfurol destilliert über. Man fängt es in kleinen, zirka 40 ccm fassenden Zylindern mit einer Marke bei 30 ccm auf und gießt, wenn 30 ccm übergangen sind, diese in ein Becherglas mit Marke bei 400 ccm, worauf man das ursprüngliche Volumen im Kolben durch Nachfließenlassen von 30 ccm Salzsäure wiederherstellt. Man wiederholt Abdestillieren und Nachfließenlassen so lange, bis kein Furfurol mehr übergeht, was nach rund einem Dutzend, je 10 Minuten dauernden Operationen erreicht ist. Daß alles Furfurol überdestilliert ist, erkennt man daran, daß ein Tropfen des Destillates mit Anilinazetat keine Reaktion mehr gibt. Die im Becherglase vereinigten Destillate versetzt man mit einem Überschuß von in 12 prozentiger HCl gelöstem reinstem Phlorogluzin und füllt mit 12 prozentiger Salzsäure auf 400 ccm auf. Die Flüssigkeit färbt sich zuerst gelb, dann grünlich, trübt sich und am nächsten Morgen hat sich das gebildete Furfurol-Phlorogluzid zu Boden gesetzt; man prüft die obenstehende klare Flüssigkeit mit Anilinazetatpapier auf etwa noch vorhandenes, ungebundenes Furfurol und filtriert dann den Niederschlag über einem Goochtiegel, wäscht ihn gründlich mit Wasser nach und trocknet ihn vier Stunden bei einer 97 ° nicht übersteigenden Temperatur, läßt im Exsikkator erkalten und wägt. Den Niederschlag kann man später durch Ausglühen entfernen, worauf der Tiegel für die folgende Bestimmung fertig ist. Aus der Menge des Phlorogluzids ergibt sich die Menge des Furfurols und der Pentose aus der empirischen Tabelle von E. Kröber (Journal für Landwirtschaft, Jahrgang 1900, S. 379—384). In dieser Tabelle sind die Werte für Arabinose, Araban, Xylose und Xylan und auch für Pentose und Pentosan im allgemeinen, welche aus den Mittelzahlen für Arabinose und Xylose gerechnet sind, angegeben. Die Tabelle enthält die Zahlen von 0,03—0,3 g Furfurol-Phlorogluzid. Beträgt dessen Menge weniger als 0,03 g, so rechnet man nach folgendem Schema, in welchem a die Menge des Phlorogluzids bedeutet:

Furfurol $= (a + 0{,}0052) \cdot 0{,}5170$
Pentose im allgemeinen $= (a + 0{,}0052) \cdot 1{,}0170$
Pentosan im allgemeinen $= (a + 0{,}0052) \cdot 0{,}8949$.

Beträgt es mehr als 0,3 g, so rechnet man:

Furfurol $= (a + 0{,}0052) \cdot 0{,}518$
Pentose im allgemeinen $= (a + 0{,}0052) \cdot 1{,}00026$
Pentosan im allgemeinen $= (a + 0{,}0052) \cdot 0{,}8824$.

Allerdings ist bei dieser Methode störend, daß in den meisten Naturprodukten neben Pentosen auch Methylpentosen auftreten und daß Furfurol neben Methylfurol durch Phlorogluzin gefällt wird und daß auch andere Kohlehydrate, wenn auch in sehr geringen Mengen, Furfurol bei der Destillation mit Salzsäure liefern. Man kann übrigens Furfurol-Phlorogluzid und Methylfurol-Phlorogluzid trennen, indem man das Gemenge mit 95 prozentigem Alkohol nach dem Trocknen und Wägen übergießt und dann zum Kochen erhitzt. Dabei lösen sich nur die Methylfurol-Phlorogluzide; aus der Differenz bestimmt man dann den Anteil,

welchen die einen und die anderen an dem Gesamtgewicht genommen haben. Bezüglich der Details muß auf die vorzügliche Darstellung von B. Tollens im zweiten Bande von Abderhaldens „Biochemische Arbeitsmethoden“ verwiesen werden.

Bezüglich des Nachweises von Stärke wurde schon darauf hingewiesen daß die einzige qualitative Reaktion auf Stärke in der Indigoblaufärbung mit Jodlösung besteht, welche Färbung bei kurzem Kochen verschwindet, um, vorausgesetzt, daß nicht zu lange gekocht worden war, beim Erkalten wiederzukehren. Verschiedene Substanzen, wie Alkalien, arsenige und schweflige Säure, Alkohol, Chloroform, Natriumthiosulfat, Chloralhydrat in größerer Menge, Tannin, manche Phenole, arabisches Gummi, Proteine, stören mehr oder weniger die Reaktion.

Quantitative Bestimmungsmethoden der Stärke sind noch nicht bekannt, d. h. wir können noch nicht in allen Fällen die genaue Menge der vorliegenden Stärke feststellen, und die einzelnen Methoden geben untereinander differierende Resultate. Diese Ungenauigkeiten rühren größtenteils von den bei den verschiedenen Aufschließverfahren in differenten Mengen entstehenden und in Lösung gehenden Pentosanen her. Die Bestimmungsmethoden sind entweder indirekte, d. h. die Stärke wird zu Dextrose hydrolysiert, diese nach einer der geschilderten Methoden bestimmt und dann auf Stärke umgerechnet oder die Stärke wird direkt auf Grund ihrer Unlöslichkeit in 60 prozentigem Alkohol bestimmt, nachdem sie zuvor in lösliche Stärke umgewandelt worden und im Filtrat die Stärke durch Alkohol ausgefällt worden ist.

Sehr gute Resultate gibt nach G. Zemplén bei genauer Einhaltung der Vorschrift das *Stärkebestimmungsverfahren* von Baumert und Bode in der Modifikation von Witte. Die zu untersuchende Substanz wird durch ein feines Haarsieb getrieben, dann werden zweimal je 1 g im Porzellanbecher mit wenig Wasser fein angerührt. Der zum Anrühren benutzte Glasstab wird mit Asbest abgerieben und mit Wasser abgespritzt. Die etwa 100 ccm fassenden Becher werden jetzt zu drei Vierteln gefüllt und mit einem Deckel mit übergreifendem Rand verschlossen, im Autoklaven 2 Stunden bei 4 Atmosphären, Stärke von Reis und Mais bei $4\frac{1}{2}$ Atmosphären, erhitzt. Nach dem Abkühlen unter 100^{0}, was nach etwa einer halben Stunde erfolgt, und Öffnen des Autoklaven wird der Inhalt des Bechers unter gutem Nachspülen und Auswaschen mit heißem Wasser durch eine Federfahne in einen geräumigen Kochkolben gebracht, in dem sich einige Zinkstücke befinden, und 10 Minuten lang gekocht. Das Zink verhindert das Stoßen und Herausgeschleudertwerden der Flüssigkeit. Durch Durchführen eines langsamen Luftstromes durch die siedende Flüssigkeit mittels eines Kapillarrohres unter Anschaltung an die Luftpumpe wird ein starkes Schäumen hintangehalten. Die Lösung wird dann unter sorgfältigem Nachspülen mit heißem Wasser in einen Kolben von 500 ccm gebracht, nahezu aufgefüllt und durch Einstellen in kaltes Wasser unter Umschwenken abgekühlt, dann mit kaltem Wasser zur Marke aufgefüllt und durchgeschüttelt.

Dann wird die Lösung über ein dünnes Asbestfilter an der Saugpumpe filtriert, die ersten Anteile des Filtrates weggegossen und 50 ccm des mittleren Filtratanteiles in ein Becherglas gebracht, mit je 5 ccm 10 prozentiger NaOH und etwa 1 g feinflockigen Asbests versetzt, die Mischung mit 100 ccm 96 prozentigen Alkohols gefällt und mit dem

Glasstabe gut verrührt. Man läßt kurze Zeit absetzen und filtriert das Überstehende durch ein 20—22 mm weites Asbestfilterrohr an der Saugpumpe ab. Den Rückstand bringt man mit 40 ccm 60 prozentigen Alkohols in das Röhrchen und wäscht unter Auswischen des Glases mit einer Federfahne nacheinander mit 40 ccm 60 prozentigen Alkohols, dann mit 25 ccm Alkohol + 10 ccm Wasser, dem 5 ccm 10 prozentige Salzsäure zugefügt sind. Man wäscht zuerst das Becherglas mit der Salzsäure, der man 10 ccm Wasser zufügt, mittels einer Federfahne gut aus, wischt den benutzten Glasstab ab und setzt dann erst den Alkohol zu. Nur auf diese Weise kann man die hartnäckig dem Glase anhaftenden feinen Stärketeilchen entfernen. Man wäscht jetzt wieder mit 40 ccm 60 prozentigem, dann mit 25 ccm 96 prozentigem Alkohol, zuletzt mit Äther aus, wobei man mit dem Glasstabe den Niederschlag im Röhrchen oft aufrührt und zum Schluß den Glasstab, nachdem der Niederschlag leicht zusammengedrückt ist, mit der Federfahne im Alkohol abwischt. Nach scharfem Absaugen wird das Röhrchen im Trockenschrank bei etwa 120°, am besten unter Durchsaugen eines langsamen, durch Schwefelsäure geführten Luftstromes 20 Minuten lang getrocknet, im Exsikkator erkalten gelassen, dann sofort gewogen, die Stärke im Luftstrome verbrannt und das Röhrchen nach dem Erkalten im Exsikkator wieder gewogen. Das Verbrennen geschieht unter Saugen an der Wasserstrahlpumpe, wobei das Röhrchen durch einen fächelnden Brenner zuvor gleichmäßig angewärmt wird; dann erhitzt man den verjüngten Teil, damit sich in demselben nicht zuviel kohlelieferndes Destillat ansammelt, und dann erst stark den Asbestpfropfen. Die Kohle setzt sich dann nur im äußersten, durch einen Stöpsel mit der Zuleitung zur Saugpumpe verbundenen Ende an und wird, nachdem die Stärke vollkommen verbrannt ist, im durchgesaugten Luftstrom ebenfalls zum vollkommenen Verbrennen gebracht.

Eine *andere Methode*, die von Mayrhofer, wird am besten eingeschlagen, *wenn die Substanz viel Proteinstoffe oder Zellulose neben der Stärke* enthält. Die Substanz wird auf dem Wasserbade mit 8 prozentiger alkoholischer Kalilauge erwärmt, wobei die Proteine und Fette gelöst werden, die Stärke aber ungelöst bleibt. Die Fette verwandeln sich dabei in Seifen und man verdünnt, um das Gelatinieren der Seife zu verhindern, mit heißem Alkohol, sammelt den unlöslichen Rückstand, in welchem sich jetzt nur Kohleydrate befinden, auf einem Asbestfilter, wäscht ihn mit Alkohol bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion und behandelt ihn schließlich mit wässeriger Kalilauge, welche die Stärke auflöst. Man säuert jetzt mit Essigsäure an und fällt die Stärke mit Alkohol aus, filtriert, trocknet und wägt. Man kann auch nach O. Lietz, nachdem man Proteine und Fette nach Mayrhofer entfernt hat, die Stärke durch Kochen mit Säure hydrolysieren und die gebildete Glukose bestimmen. Hier wird man aber besondere Rücksicht auf den Zellulosegehalt nehmen müssen. Enthält die Substanz wenig Zellulose, so erwärmt man, je nach dem Stärkegehalt, 2—10 g in einem zirka 500 ccm fassenden Kolben mit 75 ccm alkoholischer Kalilauge, die aus 5 prozentiger Kalilauge und 90 prozentigem Alkohol hergestellt ist, etwa 20 Minuten auf dem Wasserbade. Dann filtriert man das ganze Gemisch über ein Asbestfilter an der Saugpumpe ab, wäscht mit 70 prozentigem heißen Alkohol nach und bringt den Rückstand auf das Asbestfilter. Denselben bringt man dann samt dem Asbestfilter, das sich mit

der Pinzette leicht abheben läßt, in den Kolben zurück; man ist also nicht gezwungen, den Rückstand quantitativ aufs Filter zu bringen, was sich nicht so leicht bewerkstelligen ließe, da der Niederschlag stark an den Glaswandungen haftet. Man füllt auf 200 ccm auf und hydrolysiert unter Zusatz von 20 ccm konzentrierter Salzsäure 2½ Stunden im siedenden Wasserbad. Darauf kühlt man schnell ab, neutralisiert annähernd mit Kalilauge, so daß die Flüssigkeit noch schwach sauer reagiert, füllt das ganze auf 300 ccm auf, bestimmt die gebildete Dextrose und rechnet sie auf Stärke um wie bei allen indirekten Bestimmungsmethoden. Ist viel Zellulose vorhanden, so muß man auch die aus ihr bei der Hydrolyse entstehende Glukose mit in Rechnung ziehen, indem man den Rückstand zunächst mit 30—60 ccm einer 3—5 prozentigen wässerigen Kalilauge auf dem Wasserbade behandelt, wobei sich die Stärke löst. Darauf füllt man den Inhalt auf 400 ccm auf und filtriert durch ein Faltenfilter 200 ccm davon ab. Man neutralisiert mit Salzsäure, fügt noch 20 ccm HCl mehr hinzu, als zur Neutralisation notwendig ist, und kocht 2½ Stunden im Wasserbad. Schließlich bestimmt man in 20 ccm oder 50 ccm der Flüssigkeit wieder die gebildete Dextrose.

Nach der Methode von Maercker wird die *Stärke statt durch Hydrolysieren mit Säuren durch Diastase aufgeschlossen.* 3 g der lufttrockenen Substanz werden mit 100 ccm Wasser 30 Minuten gekocht, auf 65 ⁰ abgekühlt und mit 10 ccm Normal-Malzextrakt versetzt. Dazu werden 100 g käufliches Malz 2 Stunden mit 1 Liter Wasser geschüttelt und dann filtriert. Man hält das Gemisch des Extraktes und der Substanz 2 Stunden bei 65 ⁰, kocht dann nochmals ½ Stunde, kühlt wieder auf 65 ⁰ ab und behandelt mit 10 ccm Normal-Malzextrakt 2 Stunden bei 65 ⁰, kocht auf und füllt auf 250 ccm auf. 200 ccm des Filtrates werden jetzt mit 15 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,125 im Erlenmeyerkolben mit aufgesetztem Kapillarrohr in kochendem Wasserbad 2½ Stunden erhitzt, nach dem Erkalten mit Natronlauge nahezu neutralisiert und auf 500 ccm aufgefüllt. Dann wird in 25 ccm dieser Lösung die Dextrose bestimmt. Bei der Bestimmung nach Allihn, bei welcher man durch Glühen des Filterröhrchens im Wasserstoffstrom das gefällte Kupferoxydul in Kupfer verwandelt und dieses wägt, ergibt sich der dem gewogenen Kupfer entsprechende Stärkegehalt aus folgender Tabelle. (Siehe Tabelle S. 164 u. 165.) Bei weniger exakten Bestimmungen kann man auch aus den Pflügerschen Werten für Kupferoxydul das dem Oxydul entsprechende Kupfer berechnen.

Das Pentosanverfahren von Lintner besteht darin, daß man in der hydrolysierten Stärke nach dem Tollensschen Phlorogluzidverfahren eine Pentosanbestimmung ausführt und die Pentosane abzieht. Zur Bestimmung der Pentosane werden die Filtrate (je 200 ccm) in den Destillierkolben gebracht, 133 ccm Wasser abdestilliert und 33 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,18 zugesetzt, so daß die Lösung 12 % Salzsäure enthält und nun, wie vorher beschrieben, das Furfurol abdestilliert. Lintner gibt folgende Beleganalysen (zitiert nach G. Zemplén): I. 3 g Substanz wurden 3 Stunden bei 3½ Atmosphären im Dampftopf erhitzt, das Filtrat (200 ccm) mit 15 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,125 3 Stunden im kochenden Wasserbad hydrolysiert, neutralisiert, zu 50 ccm aufgefüllt und vom Filtrat 25 ccm zur Reduktion nach Allihn verwendet. Die Stärke wurde

Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg
10	5,5	69	31,8	128	58,7	187	86,2	246	114,4	305	143,4
11	5,9	70	32,2	129	59,1	188	86,7	247	114,8	306	143,9
12	6,4	71	32,7	130	59,6	189	87,1	248	115,3	307	144,4
13	6,8	72	33,1	131	60,0	190	87,7	249	115,8	308	144,9
14	7,3	73	33,6	132	60,5	191	88,1	250	116,3	309	145,4
15	7,7	74	34,0	133	60,9	192	88,6	251	116,8	310	145,8
16	8,1	75	34,5	134	61,4	193	89,1	252	117,3	311	146,3
17	8,6	76	34,9	135	61,9	194	89,5	253	117,7	312	146,8
18	9,0	77	35,4	136	62,4	195	90,0	254	118,2	313	147,3
19	9,5	78	35,8	137	62,8	196	90,5	255	118,7	314	147,8
20	9,9	79	36,2	138	63,3	197	91,0	256	119,2	315	148,3
21	10,4	80	36,7	139	63,7	198	91,4	257	119,7	316	148,8
22	10,8	81	37,2	140	64,2	199	91,8	258	120,2	317	149,3
23	11,3	82	37,6	141	64,6	200	92,3	259	120,7	318	149,8
24	11,7	83	38,1	142	65,1	201	92,8	260	121,2	319	150,3
25	12,2	84	38,6	143	65,6	202	93,3	261	121,6	320	150,8
26	12,6	85	39,1	144	66,1	203	93,8	262	122,1	321	151,3
27	13,1	86	39,5	145	66,5	204	94,3	263	122,6	322	151,8
28	13,5	87	40,0	146	67,0	205	94,8	264	123,1	323	152,3
29	14,0	88	40,4	147	67,4	206	95,2	265	123,6	324	152,8
30	14,4	89	40,9	148	67,9	207	95,7	266	124,0	325	153,3
31	14,9	90	41,3	149	68,4	208	96,2	267	124,5	326	153,8
32	15,3	91	41,8	150	68,9	209	96,7	268	124,9	327	154,3
33	15,8	92	42,2	151	69,3	210	97,1	269	125,5	328	154,8
34	16,2	93	42,6	152	69,8	211	97,6	270	126,0	329	155,3
35	16,7	94	43,1	153	70,3	212	98,1	271	126,5	330	155,8
36	17,0	95	43,6	154	70,7	213	98,6	272	127,0	331	156,3
37	17,5	96	44,0	155	71,2	214	99,0	273	127,5	332	156,8
38	17,9	97	44,5	156	71,6	215	99,5	274	128,0	333	157,3
39	18,4	98	44,9	157	72,1	216	100,0	275	128,5	334	157,8
40	18,8	99	45,4	158	72,6	217	100,4	276	129,0	335	158,3
41	19,3	100	45,8	159	73,1	218	100,9	277	129,5	336	158,8
42	19,7	101	46,3	160	73,5	219	101,4	278	130,0	337	159,3
43	20,2	102	47,7	161	74,0	220	101,9	279	130,5	338	159,8
44	20,6	103	47,2	162	74,5	221	102,4	280	131,0	339	160,3
45	21,1	104	47,6	163	75,0	222	102,9	281	131,5	340	160,5
46	21,5	105	48,1	164	75,4	223	103,3	282	132,0	341	161,3
47	22,0	106	48,6	165	75,9	224	103,8	283	132,5	342	161,8
48	22,4	107	49,1	166	76,3	225	104,3	284	133,0	343	162,3
49	22,9	108	49,5	167	76,8	226	104,8	285	133,5	344	162,8
50	23,3	109	50,0	168	77,3	227	105,2	286	134,0	345	163,4
51	23,8	110	50,4	169	77,8	228	105,7	287	134,5	346	163,9
52	24,2	111	50,9	170	78,2	229	106,2	288	135,0	347	164,4
53	24,7	112	51,3	171	78,7	230	106,7	289	135,5	348	164,9
54	25,1	113	51,8	172	79,1	231	107,1	290	135,9	349	165,4
55	25,5	114	52,2	173	79,6	232	107,6	291	136,4	350	165,9
56	25,9	115	52,7	174	80,1	233	108,1	292	136,9	351	166,4
57	26,4	116	53,2	175	80,6	234	108,6	293	137,4	352	166,9
58	26,8	117	53,6	176	81,0	235	109,1	294	137,9	353	167,4
59	27,3	118	54,1	177	81,5	236	109,6	295	138,4	354	167,9
60	27,7	119	54,5	178	82,0	237	110,1	296	138,9	355	168,4
61	28,2	120	55,0	179	82,4	238	110,6	297	139,4	356	168,9
62	28,6	121	55,4	180	82,9	239	111,1	298	139,9	357	169,5
63	29,1	122	55,9	181	83,4	240	111,5	299	140,4	358	170,0
64	29,5	123	56,3	182	83,8	241	112,0	300	140,9	359	170,5
65	30,0	124	56,8	183	84,3	242	112,5	301	141,4	360	171,0
66	30,4	125	57,3	184	84,8	243	113,0	302	141,9	361	171,5
67	30,9	126	57,8	185	85,2	244	113,4	303	142,4	362	172,0
68	31,3	127	58,2	186	85,7	245	113,9	304	142,9	363	172,5

Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg	Kupfer mg	Stärke od. Dextrin mg
364	173,1	381	181,8	398	190,5	415	199,4	432	208,5	448	216,9
365	173,6	382	182,3	399	191,1	416	200,0	433	209,0	449	217,5
366	174,1	383	182,8	400	191,6	417	200,5	434	209,5	450	218,0
367	174,6	384	183,3	401	192,2	418	201,0	435	210,0	451	218,5
368	175,1	385	183,8	402	192,7	419	201,5	436	210,5	452	219,1
369	175,6	386	184,3	403	193,2	420	202,1	437	211,0	453	219,6
370	176,1	387	184,9	404	193,7	421	202,6	438	211,6	454	220,1
371	176,6	388	185,4	405	194,2	422	203,1	439	212,1	455	220,6
372	177,1	389	185,9	406	194,8	423	203,7	440	212,7	456	221,1
373	177,7	390	186,4	407	195,3	424	204,2	441	213,1	457	221,7
374	178,2	391	186,9	408	195,8	425	204,7	442	213,7	458	222,2
375	178,7	392	187,5	409	196,3	426	205,2	443	214,3	459	222,7
376	179,2	393	188,0	410	196,8	427	205,7	444	214,8	460	223,3
377	179,7	394	188,5	411	197,4	428	206,3	445	215,3	461	223,8
378	180,2	395	189,0	412	197,9	429	206,8	446	215,9	462	224,4
379	180,7	396	189,5	413	198,4	430	207,4	447	216,4	463	224,9
380	181,3	397	190,0	414	198,9	431	207,9				

aus der Dextrosemenge durch Multiplikation mit dem Faktor 0,9 erhalten. Gefunden 66,8 % Stärke, berechnet auf Trockensubstanz. Im Filtrate der Stärkeaufschließung wurden nach der Phlorogluzidmethode 5,19 % Pentosane gefunden, der korrigierte Stärkewert ist demnach 66,8 — 5,19 = 61,61 %.

II. 3 g der Substanz wurden mit Äther entfettet, nach dem Trocknen eine halbe Stunde mit 100 ccm Wasser gekocht, auf 65 ⁰ abgekühlt, 10 ccm Malzextrakt zugesetzt und eine halbe Stunde bei 65 ⁰ digeriert, aufgekocht und eine Viertelstunde im Kochen gehalten, abgekühlt, wieder eine halbe Stunde mit 10 ccm Malzextrakt bei 65 ⁰ digeriert, abgekühlt, auf 250 ccm aufgefüllt, filtriert, vom Filtrat 200 ccm hydrolysiert und die Reduktion nach Allihn ermittelt. Gefunden 63,66 % Stärke. Bestimmung der Pentosane in dem hydrolysierten Filtrat nach Abzug der aus dem Malz stammenden Pentosane: 2,84 %, der korrigierte Stärkewert demnach 60,82 %.

III. 3 g Substanz werden mit 200 ccm Wasser und 15 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,125 direkt im kochenden Wasserbad invertiert, neutralisiert, abgekühlt, zu 50 ccm aufgefüllt, filtriert und die Reduktion ermittelt. Gefunden 70,81 % Stärke. Die Bestimmung der Pentosane im invertierten Filtrat ergab 9,81 % Pentosan, somit der korrigierte Stärkewert 61 %.

Die *Bestimmung des Inulins* führe ich immer unter Verwandlung desselben in Fruktose durch und Umrechnung derselben auf Inulin durch Multiplikation mit dem Faktor 0,9. Das Material, z. B. feingemahlene Zichorienwurzel, wird mit einer bestimmten Menge Wasser eine Stunde am Wasserbade unter Zusatz von einer Messerspitze $CaCO_3$ zur Neutralisierung der Pflanzensäuren extrahiert, abgenutscht, was häufig wegen der mitextrahierten Schleime längere Zeit dauert, und das braungefärbte Filtrat im Meßkolben auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Eine abpipettierte Menge desselben wird mit 100 ccm *n*-Bleiazetatlösung versetzt, die ausgefallenen Verunreinigungen abfiltriert und das nun bedeutend hellere Filtrat mit 100 ccm *n*-Natrium-

sulfatlösung zur Ausfällung des Bleis versetzt, das Bleisulfat über doppeltes Filter abfiltriert, das Filtrat unter Zusatz von höchstens 5 ccm Salzsäure auf 100 ccm der Lösung nicht länger als 10 Minuten am kochenden Wasserbad hydrolysiert und in einem aliquoten Teil der wieder in einem Meßkolben aufgefüllten, vorher abgekühlten, mit fester Soda neutralisierten Lösung die Lävulose bestimmt, aus der dann unter Multiplikation mit dem Faktor 0,9 die Inulinmenge berechnet wird.

Zellulose: Das einzige Lösungsmittel, welches Zellulose unverändert löst, ist Kupferoxydammoniak (Schweizers Reagens). Eine zweckmäßige Bereitung einer wirksamen Lösung von Kupferoxydammon (s. auch S. 174) ist das Übergießen von oxydierten Kupferdrehspänen mit Ammoniak. Zwei lange, unten ausgezogene und mit Hahn versehene Röhren werden mit Kupferdrehspänen locker gefüllt und senkrecht in einem Stativ befestigt. Die eine wird mit konzentriertem Ammoniak übergossen, in die andere Luft eingeleitet, um die Oxydation des Kupfers zu beschleunigen. Nach einer halben Stunde läßt man die Lösung abfließen und gießt sie in die andere Röhre ein. Kühlt man während der Behandlung mit Ammoniak die Masse, so geht mehr Kupfer in Lösung. Die Lösungsfähigkeit des Reagens gegen Zellulose ist verschieden, je nach der Vorbehandlung, der man die Zellulose unterworfen hat. Unbehandelte Zellulose liefert höchstens 4—5 prozentige Lösungen, nach Vorbehandlung mit 3 prozentiger Soda oder 4 bis 5 prozentiger Natronlauge aber 8—10 prozentige Lösungen von Zellulose. Die Abscheidung der Zellulose aus diesen Lösungen kann durch Säuren, Alkalien oder Salze geschehen, ferner durch Alkohol. Für quantitative Zwecke ist es wünschenswert, eine Kupferoxydammonlösung bestimmten Gehaltes, eine ,,Normalkupferoxydammoniaklösung" zu besitzen. Man erhält eine solche durch Auflösen des basischen Kupfersulfates, das aus Kupfervitriollösungen mit Ammoniak gefällt wird, in Ammoniak von 0,9 spezifischen Gewichtes bis zur Sättigung. 59 g Kupfersulfat, entsprechend 15 g Kupfer, werden in etwa 3 Liter heißen Wassers gelöst und mit Ammoniak gefällt, so daß kein Kupfer in Lösung bleibt; ein etwaiger kleiner Überschuß wird mit Schwefelsäure neutralisiert. Der hellgrüne, kochbeständige Niederschlag wird dekantiert und durch ein Faltenfilter mit heißem Wasser ausgewaschen bis das Filtrat schwefelsäurefrei ist (mit $BaCl_2$ keine Fällung gibt), dann mit dem Filter auf Papier etwas abgetrocknet, als dicke Paste in eine Literflasche gebracht und mit gekühltem Ammoniakwasser von 0,9 spezifischen Gewichts unter öfterem Durchschütteln zum Liter gelöst. Ein wenig Kupfersalz bleibt ungelöst, und vom Kupferoxydammoniak scheiden sich nach einiger Zeit tiefblaue Nädelchen ab. Die nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur durch Asbest filtrierte Lösung enthält 13—14 g Kupfer und rund 200 g Ammoniak im Liter. Man bestimmt das Ammoniak und Kupferoxyd zusammen durch Titrieren mit n-Schwefelsäure und Methylorange als Indikator und das Kupfer allein durch Fällung mit Schwefelwasserstoff. Diese ,,normale" Kupferoxydammoniaklösung löst bis 2 g Zellulose in 100 ccm auf. Das hellgrüne basische Kupfersulfat, welches bei 120° bis zum konstanten Gewicht getrocknet 66—69 % CuO und 17—20 % SO_3 enthält, löst sich trocken in Ammoniak schwieriger auf als die frische Paste. Ein anderes ausgezeichnetes, ja noch besseres Lösungsmittel als Kupferoxydammoniak ist Äthylendiaminlösung in Verbindung mit Kupferoxyd. Die Zellulose

wird vorerst mit der Diaminlösung durchtränkt und dann erst das nötige Kupferoxyd hinzugefügt. Aus den Lösungen wird die Zellulose durch Säuren und Alkalien wieder gefällt.

Qualitativer Nachweis: Chlorzinkjodlösung färbt Zellulose momentan blau bis blauviolett. Zu 9 Teilen einer $ZnCl_2$-Lösung (spezifisches Gewicht 2,0) wird 1 Teil einer 60 prozentigen Jodkalilösung hinzugefügt und im Gemisch Jod bis zur Sättigung aufgelöst.

In einer einprozentigen Jodkalilösung wird Jod bis zur Sättigung aufgelöst, der Überschuß des Reagens, mit dem man die Zellulose befeuchtet hat, ausgewaschen und dann einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt. Es tritt Blaufärbung ein. Diese Reaktionen fallen bei Pflanzenteilen nur dann positiv aus, wenn die Zellulose frei, d. h. nicht verholzt ist.

Quantitative Methoden zur Bestimmung der Zellulose existieren nicht, man begnügt sich, die übrigen in Naturprodukten mit der eigentlichen Zellulose verbundenen oder gemengten Substanzen zu entfernen, wobei die Zellulose unverändert bleiben soll. Da dies einerseits nicht durchführbar ist, anderseits die Verunreinigungen nicht ganz zu entfernen sind, ergeben die Zellulosebestimmungsmethoden stark voneinander abweichende Werte. Für technische Zwecke begnügt man sich häufig mit der Feststellung der „Kupferzahl", des Reduktionsvermögens gegenüber Fehlings Lösung, ferner der „Hydrolysierzahl" und des Hydratationsgrades, ferner mit der Bestimmung der Viskosität. Bezüglich dieser Verfahren sei auf das vollständige Referat von G. Zemplén im Abderhaldenschen Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden hingewiesen.

Die Zellmembran besteht nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse aus der eigentlichen Zellulose als Grundsubstanz, den Hemizellulosen und den inkrustierenden Bestandteilen. Die Zellulose ist derjenige Bestandteil, der weder durch verdünnte Säuren oder Alkalien gelöst, noch durch schwache Oxydationsmittel angegriffen wird. Die Hydrolyse der Zellulose liefert bekanntlich ausschließlich Dextrose. Unter dem, was durch Kupferoxydammoniak gelöst wird, was also unter dem Namen „Zellulose" zusammengefaßt wird, pflegt man gewöhnlich einen einheitlichen Stoff zu verstehen; es ist aber im Begriff „Zellulose" ebensowenig ein einheitlicher Stoff, sondern vielmehr ein Stoffgemenge zusammengefaßt, wie das „Lignin", d. h. der leicht oxydable Rückstand, der nach Behandlung der Zellmembran mit verdünnten Säuren und verdünnten Alkalien hinterbleibt, ein einheitlicher Körper ist.

Die Hemizellulosen sind Anhydride von Kohlehydraten, die, zum Unterschied von der eigentlichen Zellulose (die sich nur in konzentrierter H_2SO_4 glatt löst und beim nachfolgenden Verdünnen erst hydrolysiert wird), schon durch kürzeres Kochen mit verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert werden. Die Hemizellulosen, welche auch die Rolle im Stoffwechsel wieder verwendbarer Reservestoffe spielen, bestehen ferner auch noch aus anderen Monosen als aus Dextrose, sie sind Anhydride von Hexosen und Pentosen. E. Schulze bestimmte die Hemizellulosen in verschiedenen Pflanzenteilen durch erschöpfendes Extrahieren mit Wasser, Alkohol und Äther nacheinander, worauf nach Entfernung der Stärke mit Diastase behandelt und die Hemizellulosen durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in Lösung gebracht wurden.

Zu den Inkrusten, die sich in den späteren Entwicklungsstadien der anfänglich reinen Zellulose einlagern, sind Gerbstoffe, Farbstoffe, Pektinsubstanzen und bei den verholzten Membranen die sogenannten aromatischen „Leitsubstanzen" Vanillin, Furfurol, Brenzkatechin, Koniferin zu rechnen, welche letzteren zwar in relativ sehr geringen Mengen auftreten, aber durch ihre äußerst empfindlichen Farbenreaktionen mit Anilinsulfat, Phlorogluzin + HCl usw. die „Verholzung" der betreffenden Membran anzeigen.

Unter Lignin, der Menge nach die wichtigste inkrustierende Substanz der Zellmembran, verstehen wir diejenigen Bestandteile, welche einen höheren Kohlenstoffgehalt besitzen als die Zellulose, mit dieser eng verbunden sind und sie einhüllen oder durchdringen. Die chemischen Eigenschaften (Löslichkeit, Reaktionen) der Zellulose treten erst hervor, wenn das Lignin durch oxydierende Mittel beseitigt ist; es wird von der Zellulose zum Unterschied von den übrigen Inkrusten nicht durch Behandeln mit Säure oder Alkali, sondern durch Oxydationsmittel getrennt. Als Rohfaser bezeichnet man den in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslichen Anteil pflanzlicher Stoffe. Die Rohfaser hat daher eine sehr wechselnde Zusammensetzung und enthält neben der Zellulose auch noch das Lignin, Hemizellulosen, Pentosane usw.

Von den Verfahren, die Rohfaser zu bestimmen, sei hier nur das Glyzerin-Schwefelsäure-Verfahren von J. König angeführt, mit dem ich selbst gute Erfahrungen gemacht habe. 3 g lufttrockene Substanz werden in einem Kolben oder in einer Porzellanschale mit 200 ccm Glyzerin von 1,23 spezifischem Gewicht, welches 20 g konzentrierter Schwefelsäure in einem Liter enthält, versetzt, durch häufiges Schütteln oder Rühren mit einem Glasstabe gut verteilt und entweder am Rückflußkühler im Ölbade bei 133—135 ⁰ eine Stunde gekocht oder in einem Autoklaven bei 137 ⁰ (= 3 Atmosphären) eine Stunde lang gedämpft. Ich ziehe mit Tollens das Kochen vor. Das spezifische Gewicht des Glyzerins ist von Wichtigkeit und sollte bei käuflichem Glyzerin stets mit dem Aräometer nachgeprüft werden, da bei zu hohem spezifischem Gewicht die Temperatur beim nachfolgenden Erhitzen zu hoch steigt und dann durch die Schwefelsäure Akroleïnbildung und Verkohlung bewirkt wird. Die Substanz muß fein gemahlen verwendet werden. Darauf läßt man erkalten, verdünnt den Inhalt des Kolbens oder der Schale auf ungefähr 400—500 ccm, kocht nochmals auf und filtriert heiß durch ein Asbestfilter eines Goochtiegels an der Luftpumpe. Den Rückstand auf dem Filter wäscht man mit ungefähr 400 ccm siedendheißen Wassers, darauf mit erwärmtem Alkohol, dann mit einem Gemisch von Alkohol und Äther, schließlich mit Äther allein, bis das Filtrat vollkommen farblos abläuft. Darauf wird das Asbestfilter oder der Goochtiegel bei 105 ⁰ getrocknet und gewogen, der Rückstand über freier Flamme vollkommen verascht und der Tiegel mit der Asche zurückgewogen. Die Differenz zwischen beiden Wägungen gibt den Betrag der aschefreien Rohfaser. Wichtig ist sorgfältige Bereitung der Glyzerin-Schwefelsäure, gute Zerkleinerung der Substanz und sorgfältige Einhaltung der Kochzeit. Unter diesen Bedingungen liefert die Methode recht verläßliche Resultate.

Bestimmung der Zellulose, des Lignins und Kutins nach J. König: 3 g lufttrockener Substanz werden abgewogen und genau so behandelt wie vorher, der Rückstand im Gooch-

tiegel aber nicht getrocknet, sondern nach dem Absaugen des zuletzt zum Auswaschen verwendeten Äthers und Verdunstenlassen desselben an der Luft nebst dem Asbestfilter quantitativ in ein etwa 800 ccm fassendes Becherglas gebracht und unter Bedecken mit einem Uhrglas oder einer Glasplatte mit 100—150 ccm chemisch reinen 3 prozentigen Wasserstoffsuperoxyds sowie 10 ccm 24 prozentigen Ammoniaks versetzt und etwa 12 Stunden stehen gelassen; dann werden 10 ccm 30 prozentigen chemisch reinen Wasserstoffsuperoxyds zugesetzt und diese, wenn die Sauerstoffentwicklung aufgehört hat, noch zwei- bis sechsmal, d. h. so oft wiederholt, bis die Rohfaser völlig weiß geworden ist. Beim dritten und fünften Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd fügt man auch noch je 10 ccm des 24 prozentigen Ammoniaks hinzu. Man kann Wasserstoffsuperoxyd und Ammoniak in graduierten Zylindern mit eingeriebenem Glasstöpsel vorrätig halten und aus diesen die jedesmalige Menge Flüssigkeit zusetzen. Wenn die Substanz völlig weiß geworden ist, erwärmt man 1—2 Stunden im Wasserbad und kann dann, wenn das Wasserstoffsuperoxyd rein war, d. h. mit Ammoniak keinerlei Niederschlag oder Trübung gab, sofort und glatt durch ein zweites Asbestfilter filtrieren. Will man bloß das Lignin in der Rohfaser bestimmen, so kann der weißoxydierte Rückstand wie bei der Rohfaserbestimmung getrocknet, gewogen, geglüht und wiedergewogen werden: der Glühverlust stellt die Rohzellulose dar und diese, von der Rohfaser abgezogen, gibt das Lignin. Der durch das zweite Asbestfilter filtrierte Rückstand wird samt Asbestfilter zwei Stunden mit 75 ccm Kupferoxydammoniak unter öfterem Umrühren, zuletzt kurze Zeit bei ganz geringer Wärme auf dem Wasserbade behandelt und die Flüssigkeit durch einen Goochtiegel mit schwacher Asbestmasse filtriert. War von der ersten Rohfaserfiltration ziemlich viel Asbest in der Flüssigkeit, so kann man auch ohne eine zweite Asbestlage ein genügend dichtes Filter dadurch erhalten, daß man die Flüssigkeit umrührt und das erste Filtrat so oft zurückgießt, bis es völlig klar geworden ist. Die letzten Reste der ammoniakalischen Lösung werden unter Zufügung von etwas frischem Kupferoxydammoniak behufs Auswaschens abgesaugt, das Filtrat beiseite gestellt, der Rückstand im Tiegel dagegen unter Anwendung einer neuen Absaugeflasche genügend mit Wasser nachgewaschen, darauf bei 105 ^{0} bis 110 ^{0} getrocknet, gewogen, geglüht und wieder gewogen. Der Glühverlust ergibt die Menge des nicht oxydierbaren, in Kupferoxydammoniak unlöslichen Teiles der Rohfaser, das K u t i n. Das Filtrat von diesem Rückstand, d. h. die Lösung der Zellulose in Kupferoxydammoniak, wird mit 300 ccm 80 prozentigen Alkohols versetzt und stark gerührt; hierdurch scheidet sich die Zellulose in großen Flocken quantitativ wieder aus. Sie wird in üblicher Weise im Goochtiegel gesammelt, zuerst mit warmer, verdünnter Salzsäure, dann genügend mit Wasser, zuletzt mit Alkoholäther ausgewaschen, bei 105—110 ^{0} getrocknet, gewogen und verascht. Der Gewichtsunterschied zwischen dem Gewichte des Tiegelinhaltes vor und nach dem Glühen gibt die Menge R e i n z e l l u l o s e. Der Unterschied von Gesamtrohfaser minus Zellulose + Kutin ergibt die Menge des oxydierbaren Anteiles der Rohfaser, das L i g n i n.

V e r w e n d u n g v o n C h l o r z u r O x y d a t i o n d e s L i g n i n s n a c h C r o s s u n d B e v a n: Diese Methode liefert die höchsten Zahlen bei der Zellulosebestimmung und zeichnet sich durch große

Schnelligkeit und Einfachheit aus. Die Substanzen dürfen nicht länger, als absolut nötig ist, der Einwirkung des Chlorgases ausgesetzt sein, da sich sonst der zerstörende Einfluß von Chlor auch auf die Zellulose selbst geltend macht. Man führt deshalb am besten einen Vorversuch aus, um die Zeiten zu ermitteln.

Man befeuchtet die Substanz vorsichtig mit so viel Wasser, daß sie gerade davon durchdrungen wird, und setzt sie darauf in einem durch Eis gekühlten, bedeckten Becherglase der Einwirkung eines langsamen, gewaschenen Chlorstromes aus, die Dauer der Behandlung wechselt je nach der Art des Ausgangsmaterials. Man übergießt jetzt die Masse mit wässeriger schwefliger Säure bis zum Verschwinden des Chlorgeruches, filtriert durch einen gewogenen Goochtiegel, wäscht ein- bis zweimal mit Wasser, bringt die Zellulose mittels Pinzette in das Becherglas zurück und erwärmt mit 100 ccm einer 2 prozentigen Natriumsulfatlösung 1—2 Stunden auf dem Wasserbade. Darauf wird wiederum filtriert, mit heißem Wasser gewaschen und die Behandlung mit Chlor, wenn nötig, wiederholt, wobei man das Gas bei jedem Mal Einwirkenlassen kürzer zur Aktion kommen läßt. Darauf folgt ein kurzes Bleichen mit 0.1 prozentiger Kaliumpermanganatlösung, Entfärben mit schwefliger Säure, gründliches Auswaschen der erhaltenen reinen Fasern mit kaltem und heißem Wasser, Trocknen und Wägen. Die so dargestellten Präparate sind sehr rein.

Statt des gasförmigen Chlors kann man auch das viel schwächer wirkende Bromwasser verwenden. 2 g der vorbehandelten Substanz werden in einer Stöpselflasche mit 100 ccm Wasser übergossen und 5—10 ccm einer verdünnten Bromlösung (4 ccm Brom im Liter) zugegeben. Wenn die gelbe Farbe und der Geruch des Broms verschwunden ist, erneuert man den Zusatz und fährt in dieser Weise fort, bis die Flüssigkeit nach 12—24 Stunden noch ihre gelbe Farbe behält und unverbrauchtes Brom durch den Geruch wahrzunehmen ist. Die abfiltrierte Substanz wird dann gewaschen und mit verdünntem Ammoniak (4 ccm im Liter) auf dem Wasserbade erhitzt. Die bromierten Ligninsubstanzen lösen sich darin mit brauner Farbe, man filtriert, wäscht mit heißem Wasser und wiederholt, falls die Zellulose noch nicht weiß ist, die Behandlung so oft, bis das Gewebe zu einem blendend weißen Faserbrei zerfallen ist. Als Beweis der Reinheit dient, daß die erhaltene Zellulose bei weiterem Stehen mit Bromwasser und darauffolgendem Behandeln mit Ammoniak keine Spur einer Färbung zeigt. Ein großer Nachteil dieser Methode, bei welcher die Ausbeuten übrigens niedriger sind als bei der Chlorierung, ist, daß sie verhältnismäßig lange dauert, und daß zahlreiche Filtrationen durchzuführen sind; ein großer Vorteil, daß man die lästige Entwicklung von Chlorgas erspart.

Sehr häufig benutzt man bei wissenschaftlichen Bestimmungen das Verfahren von Fr. Schulze, Mazeration mit *Kalichlorat + Salpetersäure.* Henneberg hat dieses Verfahren modifiziert: 1 Teil des Rohproduktes wird mit 0,8 Teilen $KClO_3$ und 12 Teilen HNO_3 (spezifisches Gewicht 1,1) 12—14 Tage in geschlossenem Gefäß bei einer 15 ° nicht übersteigenden Temperatur digeriert. Dann wird mit Wasser verdünnt, filtriert und ausgewaschen, der Rückstand 3/4 Stunden lang mit verdünntem Ammoniak (1 : 60) bei zirka 60 ° behandelt, abfiltriert und so lange mit verdünntem kaltem Ammoniak gewaschen, bis die Flüssigkeit farblos abläuft; zum Schluß wird mit heißem Wasser aus-

gewaschen. Hier wird die oxydierende Wirkung von Chlor durch jene der niederen Stickoxyde verstärkt. Durch dieses Verfahren wird wohl das Lignin ziemlich vollständig entfernt, aber die gegenüber den anderen Verfahren niedriger ausfallenden Zahlen deuten darauf hin, daß die Zellulose ebenfalls in Mitleidenschaft gezogen wird.

Ganz ähnlich, aber weniger zeitraubend, ist die *Mazeration der Rohfaser mit Kaliumchlorat-Salzsäure* nach W. Hoffmeister. Das Rohprodukt wird mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,05 behandelt, dann so viel festes Kalichlorat hinzugefügt, als sich während der Reaktion löst. Man läßt dann unter öfterem Umschütteln bei gewöhnlicher Temperatur stehen, bis alle Teile der Faser hellgelb geworden sind, was nach 24—36 Stunden erreicht ist. Die Temperatur darf 17,5 ^{0} nicht übersteigen, weil sonst die Zellulose in nennenswertem Ausmaße angegriffen wird. Die Masse wird jetzt mit Wasser verdünnt und dann auf dem Wasserbad 1—2 Stunden mit Ammoniak digeriert, abgesaugt und dann mit kaltem, schließlich mit heißem Wasser gewaschen. Die Präparate, welche nach dieser Methode erhalten werden, sind stark braun, wohl ligninfrei, aber oxyzellulosehaltig. Der Farbstoff kann durch Oxydationsmittel, wie Kaliumpermanganat oder Natriumhypochlorit leicht entfernt werden. Der größte Nachteil dieser Methoden ist, daß der Endpunkt der Ligninzerstörung nicht zu erkennen und man daher gezwungen ist, eine Reihe von Bestimmungen vorzunehmen und aus ihnen das Mittel zu ziehen. Denn nach Zerstörung der Ligninsubstanzen beginnt gewöhnlich der Angriff auf die eigentliche Zellulose, welcher sich am besten durch das Auftreten von Oxyzellulosen zu erkennen gibt. Immerhin stimmen die einzelnen Bestimmungsmethoden in ihren Werten untereinander recht befriedigend überein. Quantitative Methoden im Sinne des Chemikers gibt es eben bei der Zellulosebestimmung nicht, da wir über die chemischen Eigenschaften und die Konstitution der Zellulose noch sehr mangelhaft orientiert sind und fast gar nichts über die Art des Zusammenhanges zwischen Zellulose und den sie begleitenden Hemizellulosen und Inkrusten wissen. Deshalb können alle Bestimmungsmethoden der sogenannten Rohfaser kaum jemals brauchbare absolute Werte geben, sondern immer nur relative, im Vergleich zu verwendende Zahlen. Die Verholzung kann durch eine Reihe von Farbenreaktionen nachgewiesen werden, von denen die gebräuchlichsten die mit Anilinsulfat (Goldgelbfärbung) und die mit Phlorogluzin + Salzsäure (Violettrotfärbung) sind. Eine grüne Färbung mit der Holzsubstanz liefert Thymol, eine kirschrote Indol und Pyrrol. Wenn man verholzte Zellen eine Minute in eine Auflösung von Amylalkohol oder Isobutylalkohol in konzentrierter Schwefelsäure legt, so bereitet, daß man unter Kühlung gleiche Teile des Alkohols und der Schwefelsäure vermischt, so daß sich die Flüssigkeit nur wenig braun färbt, und dann die Schnitte oder Gewebeteile, nachdem man sie 1 bis 5 Minuten mit dem Reagens geschüttelt hat, in Glyzerin überträgt, so zeigen sich, besonders unter dem Mikroskop, die verholzten Zellen rot, grün oder blau, je nach dem Grade der Verholzung, gefärbt. Wenn man die zu untersuchende Substanz nach dem Befeuchten mit Chlorgas behandelt, auswäscht und sie dann in verdünnte Natriumsulfitlösung einlegt, so färben sich die verholzten Stellen himbeer- bis bordeauxrot. Wenn man Schnitte verholzter Substanz einige Minuten mit verdünnter Kaliumpermanganatlösung in Berührung läßt, dann auswäscht und in

verdünnte Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,06 bringt, so löst sich der in den Zellwänden abgesetzte Braunstein, und es entwickelt sich Chlor, welches die verholzenden Substanzen chloriert. Betupft man nun nach dem Auswaschen mit Ammoniak (oder hält die Schnitte über den Hals einer Flasche mit Ammoniak), so zeigt sich eine tiefrote Färbung.

Man kann nach Cross, Bevan und Briggs das Lignin folgendermaßen bestimmen: Bei der Kondensationsverbindung, welche das Phlorogluzin in der Wiesnerschen Reaktion mit der Holzsubstanz eingeht, und bei welcher die schon deutlich sichtbare rote Färbung entsteht, wenn auch nur Spuren der reagierenden Substanzen zugegen sind, handelt es sich um eine Vereinigung dieser Substanz mit Phlorogluzin, welche beim Waschen mit Wasser nicht zerlegt wird. Mit Hilfe dieser Beobachtung wurde ein Titrationsverfahren gefunden, welches darauf basiert, daß in zwei genau unter denselben Bedingungen ausgeführten Phlorogluzinbestimmungen und aus der Differenz, welche diese beiden Bestimmungen ergeben, die Phlorogluzinmenge ausfindig gemacht wird, welche die Lignozellulose bindet, so daß deren Quantität festgestellt werden kann. Man verwendet 1. eine Lösung aus 2,5 g reinen Phlorogluzins in 500 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,06; 2. eine Lösung von 2 g Furfurol in 500 ccm Salzsäure desselben spezifischen Gewichts oder eine Lösung von 2 ccm 40 prozentigen Formaldehyds in einer solchen Salzsäure. 2 g fein zerkleinerter Lignozellulose, deren Wassergehalt in einer Parallelprobe ermittelt wird, werden auf der analytischen Wage abgewogen, die Substanz in einen trockenen Kolben getan und sofort mit 40 ccm der Phlorogluzinlösung übergossen. Der Kolben wird verstöpselt, geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Am Morgen wird die Flüssigkeit durch einen sehr kleinen, im Trichterhals befindlichen Baumwollenpfropfen abfiltriert, vom Filtrate 10 ccm mit einer Pipette entnommen und in den Titrationskolben gegeben. Nachdem man mit 10 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,06 verdünnt und auf ungefähr 70° C erwärmt hat, wird die Furfurol- oder Formaldehydlösung aus einer Bürette zutropfen gelassen. Nach jedesmaligem Zufließen von 1 ccm läßt man die Flüssigkeit 2 Minuten stehen, ehe man sie prüft, wobei die Temperatur konstant auf 70° C gehalten wird. Diese Prüfung besteht darin, daß man einen Tropfen der Flüssigkeit ohne Filtration auf ein Stück ordinäres Zeitungspapier bringt. Ein Tropfen Phlorogluzinlösung in der Verdünnung 1 : 30 000 ruft auf solchem ungeleimtem Papier in einer Minute einen roten Fleck hervor. Nachdem man hier den Prüfungstropfen 10 Sekunden auf das Zeitungspapier hat einwirken lassen, schleudert man ihn ab und beobachtet, im Falle noch unausgefälltes (ungebundenes) Phlorogluzin vorhanden ist, einen roten Fleck. Gegen Ende der Titration wird die Phlorogluzinlösung in Mengen von nur je 0,25 ccm hinzugegeben, indem man nach jeder Zugabe eine Pause von 2 Minuten vor der Prüfung eintreten läßt. Nahe dem Schluß der Reaktion erscheint der rote Fleck auf dem Indikatorpapier immer später, schließlich erkennt man einen solchen auf dem feuchten Papier gar nicht, sondern muß, bevor man ihn hervortreten sieht, das Papier trocknen, indem man es in angemessener Entfernung von einer Bunsenflamme hält. Tritt kein roter Fleck mehr auf, so ist die Titration beendigt. Nach der Bestimmung werden 10 ccm der ursprünglichen Phlorogluzinlösung in genau derselben Weise titriert und

so die Menge des von der Lignozellulose absorbierten Phlorogluzins durch die Differenz der Bestimmungen festgestellt. Dieser Absorptionswert des Phlorogluzins wird dann in Prozenten des vorher bestimmten Trockengewichts der Lignozellulose ausgedrückt. Diese Bestimmung ergibt also natürlich keine absoluten Werte, was ja auch schon deshalb nicht möglich ist, weil man die chemische Natur des „Lignins" nicht kennt und demnach nicht darüber orientiert ist, in welcher Relation die Phlorogluzinabsorption zur Menge dieser Stoffe stehen kann. Man ist aber in der Lage, diese Zahlen als Vergleichswerte zu brauchen und, wenn eine Reihe Titrationszahlen bekannt sind, aus diesen eine gewisse Normalzahl anzunehmen, auf die man die anderen bezieht. Die Stoffe der Holzsubstanz, welche die genannten Farbenreaktionen geben, lassen sich entweder durch Kochen von Holzpulver mit Zinnchlorür nach der Methode von Czapek oder durch die weniger in das chemische Gefüge der Holzsubstanz eingreifende von mir: Kochen des Holzes mit Wasser unter Druck bei 180° im Autoklaven herstellen, worauf man die Substanzen durch Extrahieren mit Äther gewinnt. Es macht den Eindruck, als wären sie in chemischer (etwa esterartiger) Bindung mit der Zellulose vorgelegen und diese Bindung wäre durch die genannten Prozeduren gelöst worden. Nach meinen Untersuchungen besteht die Holzsubstanz aus einem Gemenge von Vanillin, Methylfurfurol, Furfuralkohol und Brenzkatechin, ferner von Koniferin. Mit konzentrierter Salzsäure allein behandelt, färbt sich Holz grün, eine Färbung, die höchstwahrscheinlich dem Methylfurfurol in Verbindung mit dem Koniferin zuzuschreiben ist. Die Intensität der Färbungen mit den Holzreagenzien, auch wenn nur die geringsten Spuren der Holzsubstanz vorhanden sind, erklärt sich einerseits aus der Empfindlichkeit der Phenolfarbstoffe überhaupt, anderseits aus der außerordentlich feinen Verteilung dieser Substanzen durch Harze, Schleime, Pektine, Hemizellulosen, kurz kolloidale Substanzen, auf deren Einlagerung nach Wislicenus die Holzbildung beruht; schließlich aus der Fähigkeit der Zellulose, eingedrungene Stoffe festzuhalten. Es ist übrigens durch meine Untersuchungen wahrscheinlich geworden, daß die farbengebenden Substanzen Vanillin, Methylfurol, Brenzkatechin durch einen Sekundärprozeß aus der vorgebildeten Zellulose, respektive deren Kohlehydrateinlagerungen, selbst entstehen und daß die entstehenden Kohlenstoffringe mit den Gerbstoffen und durch diese auch mit dem rotblauen Blütenfarbstoff, Anthokyan, in genetischer Beziehung stehen[1]).

Zur quantitativen Trennung von Hemizellulose, Zellulose, Lignin und Pentosanen hat W. Hoffmeister [2]) ein Verfahren ausgearbeitet. Die Agenzien, welche zur Reindarstellung dieser Polysaccharide angewendet werden wie starke Säuren (Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Essigsäure) und Alkalien oder Gemische der Säuren mit Kalichlorat, aber selbst Kochen mit Wasser unter Druck greifen Zellulose, Hemizellulosen usw. an oder zerstören sie. Ein für Hemizellulosen und Zellulosen geeignetes, wenig angreifendes Lösungsmittel ist 5prozentige

[1]) Die einschlägigen Verhältnisse, die hier nur angedeutet werden können, finden in meiner im gleichen Verlage erscheinenden Pflanzenphysiologie ausführliche Behandlung.

[2]) W. Hoffmeister, Die quantitative Trennung von Hemicellulose, Cellulose und Lignin und das Vorkommen der Pentosane in diesen. Landw. Jahrb. **50**, 347 (1898).

NaOH, in welcher ein großer Teil der Pentosane, allerdings nicht alle, und Teile von Hexosanen löslich sind. Die zerkleinerten Pflanzenstoffe werden zunächst durch Äther von Fett befreit und nacheinander mit verdünnter Salzsäure und Ammoniak in der Kälte extrahiert. Der Rückstand wird mit 5 prozentiger NaOH unter Umschütteln während einiger Tage behandelt, soweit es möglich, die klare Lösung dekantiert, nochmals, wenn nötig, mit NaOH oder mit Wasser übergossen und solange extrahiert, als sich noch etwas löst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden mit Salzsäure neutralisiert und mit Alkohol versetzt, um ein schnelleres Absetzen zu ermöglichen. Unter Dekantieren wird schließlich die Hemizellulose auf ein Faltenfilter gebracht, mit alkoholhaltigem, zuletzt mit ammoniakalischem Wasser ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Zur vollkommenen Reingewinnung kann die Auflösung und Fällung wiederholt werden. In der Tollensschen Methode ist das geeignete Mittel gegeben, die vorhandenen Pentosane zu bestimmen. Das zweite Lösungsmittel ist Schweizers Reagens: Eine beliebige Menge Kupfersulfat wird in heißem Wasser gelöst, noch heiß mit Ammoniak möglichst genau ausgefällt, der Niederschlag durch Dekantieren ausgewaschen, mit kaltem Wasser übergossen und mit so viel verdünnter Natronlauge geschüttelt, bis die anfangs grüne Farbe in eine hellblaue übergegangen ist, und dann wieder durch Dekantieren ausgewaschen. Den in wenig Wasser aufgeschwemmten Niederschlag löst man entweder direkt in Ammoniak auf oder bewahrt ihn in der Kälte, um ihn erst vor dem Gebrauch zu lösen. Das Reagens wird nach Erschöpfung der Substanzen mit NaOH und Auswaschen der Lauge angewendet und löst die Hexosane und Pentosane auf, soweit das nicht durch Inkrusten verhindert wird. Die Substanz wird, wie bei der Behandlung mit Natronlauge, mit dem Kupferoxydammoniak während einiger Tage wiederholt geschüttelt, dann wird dekantiert und so oft mit verdünntem Ammoniak behandelt, als sich noch etwas löst. Das Filtrieren erfolgt an der Nutsche mit Hilfe der Pumpe. Die durch Dekantieren und Filtrieren gewonnenen Lösungen der Zellulose in Schweizers Reagens werden auf der Porzellanschale bei gelinder Wärme am Wasserbad zur Trockene eingedampft, mit Salzsäure und Salpetersäure enthaltendem kaltem Wasser aufgenommen, unter Umrühren das Kupfer in Lösung gebracht, die blaue nach dem Absetzen obenstehende Kupferlösung über ein Filter abdekantiert und das Auswaschen mit angesäuertem Wasser solange wiederholt, als sich noch Kupfer in der Lösung nachweisen läßt. Die rückständige Zellulose wird mit ammoniakalischem Wasser gewaschen und dies so lange fortgesetzt, als das Wasser noch gefärbt ist, schließlich am Filter mit Alkohol gewaschen, worauf die Zellulose als gequollene rein weiße oder auch mehr oder weniger gefärbte Substanz zurückbleibt. Erneutes Auflösen in Schweizers Reagens und Fällen führt schließlich völlige Reinigung herbei. Diese aus Schweizers Reagens erhaltene Zellulose wird nach Tollens auf Pentosane untersucht. Der mit NaOH und Schweizers Reagens erschöpfte Rückstand wird durch Erwärmen von Ammoniak befreit, zuerst mit Salzsäure und Wasser, dann mit Ammoniak und Wasser ausgezogen, gewaschen und getrocknet. Er enthält das Lignin, welches entweder für sich bestimmt oder zur Untersuchung respektive Trennung der Zellulose von den inkrustierenden Substanzen weiter verarbeitet und auf Pentosane untersucht wird. Das Lignin wird in den Tollens-

schen, mit Kühlvorrichtung versehenen Extraktionsapparat eingeführt und derselbe mittels Kautschukstöpsels in einen hinreichend großen Kolben eingefügt, der zu drei Viertel mit verdünntem Ammoniak gefüllt ist, dessen Stärke so bemessen wird, daß beim Sieden des Ammoniakwassers nur wenig Ammoniak entweicht, das in einem geeigneten Gefäß mit Wasser aufgefangen wird. Die Birne, welche das Lignin enthält, wird durch das siedende Ammoniak erwärmt, während der Kühler auch ohne stetig fließendes Wasser, falls nur die Birne hinreichend groß ist, kalt bleibt. Die Stärke der Flamme wird dementsprechend reguliert. Die Flüssigkeit im Kolben färbt sich nach einiger Zeit braun und immer dunkler von den extrahierten inkrustierenden Substanzen; von Zeit zu Zeit muß Ammoniak nachgefüllt werden. Da die frei werdende Zellulose hartnäckig Lignin einschließt und es vor der Einwirkung des Ammoniaks schützt, ist es zweckmäßig, Ammoniakextraktion und Extraktion mit Schweizers Reagens abwechseln zu lassen, wobei der im Kupferoxydammoniak unlösliche Rest des Lignins wieder in die Birne gebracht wird, und so wird in stetem Wechsel von Neuauflösen der Zellulose und weiterem Extrahieren des Restes mit Ammoniak so lange fortgefahren, bis letzteres nichts mehr löst; der Rest besteht aus einem braunen Körper, der, kurze Zeit mit verdünnter Natronlauge gekocht, noch darauf mit Ammoniak behandelt, die letzten Reste inkrustierender Substanz zu gewinnen gestattet, die mit Säure ausgefällt werden; diese abfiltrierte und getrocknete Ausfällung wird zusammen mit dem Trockenrückstand der vereinigten ammoniakalischen Auszüge als „inkrustierende Substanzen“ gewogen. Die Untersuchung von Samenschalen der Sonnenblume ergab z. B. folgendes: 150 g der trockenen Schale ergaben nach Extraktion mit Äther, verdünnter Salzsäure und Ammoniak 102,2 g Rückstand = 68,1 %, verloren an Natronlauge 4,18 g = 2,78 % Hemizellulose, an Schweizers Reagens 10,08 g = 6,7 % Zellulose, unlöslicher Rest 85 g = 56,7 % Lignin. In der Hemizellulose (Natronlaugeextrakt) wurden gefunden: 1 g Hemizellulose = 0,814 Pentosan = 81,4 %; in der Zellulose (Schweizers Reagens): 2 g Zellulose = 1,090 Pentosan = 54,5 %. Es bestehen somit die mit den beiden Lösungsmitteln erhaltenen Kohlehydrate zum bei weitem größten Teil aus Pentosan. 50 g des nicht löslichen Restes (Lignin) wurden im Extraktionsapparat während 6 × 24 Stunden mit verdünntem Ammoniak extrahiert. Der Inhalt der Birne wurde dann getrocknet, gewogen und mit Natronlauge ausgezogen. Es wurden 1,91 g Hemizellulose gewonnen, welche enthielten: 1,91 = 0,7257 Pentosan = 36 %. Der trockene Inhalt der Birne betrug 37,18 g; Hemizellulose daraus extrahiert ergab 1,91 g, die darauffolgende Extraktion mit Schweizers Reagens 20,16 g (Zellulose) und fast 1 g inkrustierender Substanz. Mithin wurden erhalten 22,07 Kohlehydrat und der Ligninrest sowie die bis dahin ausgezogene inkrustierende Substanz. Die durch Extraktion mit Schweizers Reagens erhaltenen 20,16 g enthielten noch erhebliche Mengen Pentosan: 2 g gaben 0,0436 Pentosan = 2,18 %. Als aber diese aus Schweizers Reagens erhaltene Zellulose mit Natronlauge extrahiert wurde, ließ sich wieder ein, also lediglich durch Behandlung mit Schweizers Reagens veränderter, in der Kälte wiedergewonnener Teil ausziehen, und dieser ergab 1,1724 g = 0,1310 g Pentosan = 11,1 %. Aus dem ammoniakalischen Auszug des Lignins sowie aus den ammoniakalischen Wasch-

wässern der Hemizellulose und Zellulose sowohl wie des unlöslichen Ligninrestes ließen sich 13,26 g inkrustierender Substanz gewinnen, und es blieb ein Rest von 14,21 Lignin: 22,07 + 13,26 + 14,21 = 49,54; es war somit nur 0,46 g von den in Arbeit genommenen 50 g verlorengegangen. Die bis dahin in Schweizers Reagens unlösliche Menge = 14,21 wurde weiter in zweimaliger Behandlung von je 6 Tagen mit Ammoniak und ebenso mit Schweizers Reagens extrahiert und nach der ersten, respektive zweiten Extraktion 2,045, nach der zweiten, respektive dritten 0,26 g Zellulose erhalten. Das in Schweizers Reagens Unlösliche enthielt keine Zellulose mehr und ließ sich leicht durch Kochen mit Natronlauge und Extrahieren mit Ammoniak in Lösung bringen. Auch hier wurden die inkrustierenden Substanzen gewonnen und ihr Gewicht bestimmt. Der Verlust ist auch hier nicht sehr bedeutend. Somit bestanden die 50 g des Lignins aus 24,37 extrahierbarer Zellulose, respektive Hemizellulose — Pentosan und Hexosan — und aus dem Rest: inkrustierende Substanzen und Aschebestandteile. Die Methode ist natürlich ebensowenig wie andere Rohfaserbestimmungen streng genommen quantitativ, aber sie ermöglicht doch annähernd eine Bestimmung der zelluloseartigen Kohlehydrate und der inkrustierenden Substanzen und vor allem die Feststellung des Verhältnisses dieser beiden. Ein großer Nachteil dieser Bestimmungen ist der häufige Wechsel der verschiedenartigen Operationen, die langwierigen Extraktionen, Dekantierungen und Filtrationen, welche selbst bei Anwendung nicht zu großer Mengen der Analysensubstanz die Erledigung aller Operationen doch erst binnen einigen Wochen möglich machen. Immerhin war es beispielsweise möglich, zu ermitteln, daß der Klee im ersten Vegetationsjahr bis zum Schlusse eine Zunahme sowohl an Zellulose als an Lignin zeigte, während im zweiten lediglich eine Zunahme an Lignin erfolgte. Der Gehalt an Pentosanen in Schweizers Extrakt entwickelt sich beim Klee im zweiten Vegetationsjahr relativ höher als im ersten, er nimmt dagegen umgekehrt an Lignin im zweiten Vegetationsjahr mehr ab als im ersten, was allerdings noch der Bestätigung bedarf.

VI. Fette, Öle und Wachse.

Um Pflanzenteile auf das Vorhandensein von Fetten zu prüfen, muß man diese aus den Pflanzenteilen mit geeigneten Lösungsmitteln extrahieren. Die Extraktion erfolgt am einfachsten im Soxhletschen Apparat, in dem eine Pergamentpapierhülse eingesetzt ist (Fig. 59 und 60). Im Notfalle kann man sich eine Extraktionshülse auch selbst aus Filtrierpapier herstellen, indem man dieses mehrfach um einen Glaszylinder herumwickelt, der einen etwas kleineren Durchmesser besitzt als der Extraktionsapparat, den Papierzylinder dann herunterschiebt und an einem Ende dütenförmig zusammenlegt. Bei sehr wasserreichen Pflanzenteilen ist es zweckmäßig, die Pflanzenteile vorher von der Hauptmenge des Wassers zu befreien, indem man sie mit Alkohol extrahiert; ein Trocknen des ganzen oder zerkleinerten Materials im Trockenschrank ist nicht ratsam, weil die Fette, welche ja bekanntlich Ester des Glyzerins und der höheren Fettsäuren, Stearinsäure, Palmitinsäure, Ölsäure usw., sind, beim Trocknen leicht eine Spaltung in ihre Komponenten erleiden, von denen die Fettsäuren durch Zerspaltung in niedrigere Fettsäuren

und Oxydation, das Glyzerin bei unvorsichtigem Trocknen durch Wasserentzug verändert werden können. Man kocht also mit Alkohol aus, läßt das Material dann bei sehr niedriger Temperatur, am besten unter Darüberstreichen eines Luftstromes, trocknen, vermahlt es dann in einer Mühle fein und extrahiert es dann im Extraktionsapparat mit einem der Fettlösungsmittel, Schwefelkohlenstoff (Siedepunkt 46,2 ° C), Tetrachlorkohlenstoff (Siedepunkt 76,75 ° C), Äther (Siedepunkt 36 ° C) oder Petroläther. Am besten verwendet man ein Gemisch von Petroläther und Äther. Der zum Wegnehmen des Wassers verwendete Alkohol löst auch etwas vom Fett, ferner Lezithin und andere Stoffe, die sich in Alkohol, in Fett oder Lezithin auflösen. Infolgedessen darf man den Alkohol nicht wegschütten, sondern man dampft ihn im luftverdünnten Raum bis auf ein kleines Volumen des Extraktes ab und schüttelt die wässerig- alkoholische Lösung mit Petroläther aus, wobei man sich bildende Emulsionen durch tropfenweisen Zusatz von Alkohol zum Verschwinden bringt. Man kann auch, statt im Schütteltrichter zu schütteln, die Extraktion der alkoholischen Flüssigkeit im Aronschen[1]) Apparat vornehmen. Der Apparat besteht aus einem Kolben (Fig. 61) mit weitem Hals und einem auf diesen Kolben mit Hilfe eines Schliffes aufsetzbaren Mantelrohr, das sich nach oben verschmälert und in ein Glasrohr ausläuft, das die Verbindung mit einem Rückflußkühler ermöglicht. Sollen feste Stoffe extrahiert werden, so wird ein Glaseinsatz mit seitlicher Heberschleife (genau so wie beim Soxhletextraktor) verwendet, in den die mit dem Extraktionsgut gefüllte Extraktionshülse (Schleicher-Schüllsche Pergamenthülse) eingesetzt wird. Dieser Glaseinsatz wird in das Mantelrohr von der unteren breiten Schliffföffnung her eingeführt und mittels zweier an seinem oberen Rand befindlicher Glasnuten in dem Mantelrohr aufgehängt, das innen zwei Glaslager zum Einhängen des Einsatzes trägt. Das obere Glasrohr des Mantels wird durch einen Schlauch eng mit dem Rohre eines Rückflußkühlers verbunden. Der Vorteil dieses Extraktors ist vor allem, daß die Dämpfe des Extraktionsmittels nur einen kurzen Weg haben und den Glaseinsatz ständig umspülen, so daß das Extraktionsmittel in der Hülse fortdauernd im

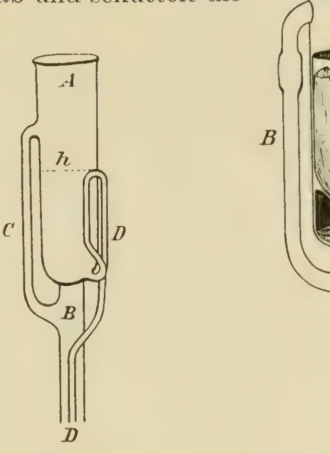


Fig. 59. Soxhletscher Extraktor.
Das Rohr B wird in den mit dem Extraktionsmittel beschickten Kolben eingesetzt, A mit dem Rückflußkühler verbunden, die Dämpfe des Extraktionsmittels steigen durch B und C aufwärts, werden kondensiert, fließen durch A in die Hülse, die Flüssigkeit steigt bis zum Niveau h, worauf sie automatisch durch D in den Kolben zurückgehebert wird.

Fig. 60. R. Frühlingsche Modifikation des Soxhlet-Apparates mit Hülse- Bequemes Handhaben beim Füllen und genaues Wägen der Substanz vor und nach der Entfaltung. Der Heber ist ins Innere des Gefäßes verlegt. B und b entsprechen genau den Teilen C und D in Fig. 61. C ist ein in den eingeschliffenen Deckel eingelassener Rückflußkühler.

[1]) H. Aron, Ein einfacher Extraktionsapparat zur Extraktion von festen und flüssigen Stoffen. Bioch. Zsch. 50, 386 (1913).

Sieden erhalten wird, ein großer Vorteil vor der kalten Extraktion im originalen Soxhlet-Apparat, besonders bei hochsiedenden Extraktionsflüssigkeiten. Dadurch arbeitet der Apparat sehr rasch und infolge der einzigen vorhandenen Öffnung, des breiten Schlitzes, sind die Verluste an Extraktionsmittel auf ein Minimum reduziert. Will man Flüssigkeiten mit Äther oder dergleichen extrahieren, so verwendet man einen anderen Glaseinsatz (Fig. 62), der auch von unten in das Mantelrohr eingeführt und darin mittels zweier Glasnuten aufgehängt wird. Dieser Apparat ist den bewährten Vorrichtungen zur Extraktion von Flüssigkeiten nachgebildet; die im Kühler kondensierten Dämpfe des Lösungsmittels fallen aus dem Kühler in das trichterförmig erweiterte Rohr, das bis auf den Grund des Glaseinsatzes reicht, steigen von unten nach oben durch die ganze im Glaseinsatz befindliche, zu extrahierende Flüssigkeit durch und fließen ständig durch das Heberrohr, mit der extrahierten Substanz gesättigt, in den Entwicklungskolben ab. Die zu extrahierende Flüssigkeit wird bis knapp unter das Heberrohr eingefüllt, so daß die Schichte des Lösungsmittels, welche ständig über dem Flüssigkeitsniveau steht, äußerst schmal ist. Auch hier besteht ein großer Vorteil darin, daß der Glaseinsatz fortwährend von den Dämpfen des Extraktionsmittels umspült ist und demnach die Extraktion in der Wärme verläuft. Der Apparat wird in zwei Größen, für die gebräuchlichen Extraktionshülsen (30 × 80 mm) passend und in größerer Form (Einsatz 70 mm breit, 220 mm hoch, Mantelrohr 80 mm breit und 300 mm hoch, Extraktionskolben mit einem Fassungsraum von 1500 ccm, kann also mit 800—1000 ccm Flüssigkeit beschickt werden) hergestellt. Abgesehen davon, daß er für Ausziehen von Alkaloiden u. dgl. aus Pflanzenextrakten sehr geeignet ist, wird er auch besonders zur Extraktion von Fetten, Eiweißstoffen u. dgl. Verwendung finden. Will man die Fette nicht gleich analysieren, sondern einige Zeit aufbewahren, so muß man dafür sorgen, daß dieselben in sorgfältigst getrocknetem Zustande verharren. Man läßt den Petrolätherextrakt, nachdem man im Vakuum den größten Teil des Petroläthers abdestilliert hat, zwei Tage im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure stehen, wirft dann noch ein Stück geschmolzenen Chlorkalziums hinein und bewahrt ihn in mit eingeriebenem Stöpsel verschlossenen kleinen und möglichst bis zum Rande gefüllten Gläsern vor Luft geschützt auf. Häufig sind in den Extrakten noch Lipasen, fettspaltende Enzyme, vorhanden, welche bei längerer Aufbewahrung eine Zersetzung des Fettes in seine Komponenten veranlassen; man kann sie nur durch Erhitzen der gereinigten Fette auf höhere Temperatur unwirksam machen, wobei aber die Erwärmung in einer Atmosphäre trockener Kohlensäure vorgenommen werden muß, um Zersetzungen und Oxydationen zu vermeiden. Im alko-

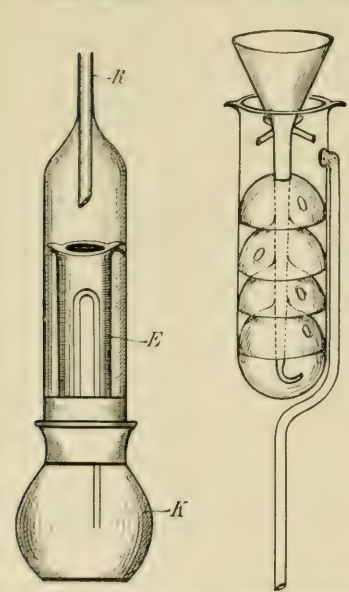


Fig. 61. Apparat von Aron. *K* = Kolben; *E* = Extraktionshülse; *R* = Rückflußkühler.

Fig. 62. Modifikation des Aronschen Extraktors zum Ausziehen von Flüssigkeiten.

holischen Extrakt können außer Fetten auch Lezithine vorliegen, die man durch ihren Phosphorgehalt erkennt. Man kann den vom Alkohol befreiten Extrakt mit rauchender Salpetersäure oder mit Ätzkali und Salpeter erhitzen, wodurch der Phosphor unter Zerstörung der organischen Substanz zu Phosphorsäure oxydiert wird. Diese erkennt man dann durch die Niederschläge, welche die Probe mit Magnesiamixtur, bzw. mit molybdänsaurem Ammon liefert. Man kann die fremden Bestandteile aber auch beim Fett lassen; man geht dann am besten in der Weise vor, daß man die fein zermahlene, trockene (z. B. Samen-) Substanz mit der 4—6fachen Menge fein gemahlenen, gebrannten Gipsmehles mischt und dann im Extraktionsapparat mit Petroläther extrahiert. Dieses Verfahren hat nicht nur den Vorteil, daß das noch vorhandene Wasser gebunden wird, sondern daß schleimige, pektinöse Substanzen durch den Gips adsorptiv zurückgehalten werden.

Von den so gewonnenen Fetten müssen zunächst die wichtigsten physikalischen Konstanten wie spezifisches Gewicht, Schmelz- und Erstarrungspunkt, Löslichkeit, Konsistenz und Viskosität ermittelt werden. Es wird in einer Vorprobe die Reaktion des auf dem Wasserbade geschmolzenen Fettes oder des flüssigen Öles direkt gegen Indikatoren wie Lackmus und Phenolphthalein festgestellt, wobei man auch auf die Reaktion der beim Erwärmen entweichenden Dämpfe achtet, welche flüchtige Fettsäuren enthalten können. Die Gegenwart von Glyzeriden der Ölsäure erkennt man durch die Elaidinreaktion, indem man das Öl in der Eprouvette mit der gleichen Menge Salpetersäure und einigen Stückchen Kupferdraht zusammenbringt: Das Öl erstarrt hierbei binnen kurzer Zeit zu einer festen Masse, indem das flüssige Glyzerid der Ölsäure in das feste Glyzerid der stereoisomeren Elaidinsäure übergeht. Die *Bestimmung des spezifischen Gewichtes* findet in Pyknometern statt, von denen Röhmann das von Ubbelohde[1]) empfiehlt: Das Instrument (Fig. 63) besitzt bei 15° C einen Inhalt von 10 ccm und wird mit Wasser von 15° C gefüllt. Das Taragewicht ist gleich dem Gewichte des mit Wasser von 15° gefüllten Apparates. Der Ansatz des Kapillarröhrchens ist nahe dem Boden, damit die schwimmenden Fettstückchen die Röhre nicht verstopfen. Man fügt nun eine gewogene Menge m des in Stücke geschnittenen Fettes durch den Hals des mit Wasser von 15° gefüllten Pyknometers ein, setzt den Stopfen auf und ermittelt das Zusatzgewicht m_1, welches notwendig ist, um die Wage wieder in Gleichgewicht zu bringen. Dieses Zusatzgewicht plus dem Gewicht m ergibt das Volumen V des Fettes, folglich ist das spezifische Gewicht bei 15°, bezogen auf Wasser von 15°, für Stoffe leichter als Wasser $m : (m + m_1)$, für Stoffe schwerer als Wasser $m : (m - m_1)$. In der folgenden Tabelle, S. 180, seien die spezifischen Gewichte einiger Fette nach J. Lewkowitsch angegeben.



Fig. 63
Pyknometer

Gute Dienste bei der Erkennung eines Öles leistet bisweilen die *Kapillaranalyse* von Goppelsröder, bei welcher die Steighöhen der Fette oder Öle in Filtrierpapierstreifen von je 24 zu 24 Stunden bestimmt werden. Unter den Pflanzenölen steigt das Rizinusöl am

[1]) F. Röhmann im II. Bande der Biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden.

Fett	Spez. Gewicht bei 100° C, bezogen auf Wasser von 15° C	Fett	Spez. Gewicht bei 100° C, bezogen auf Wasser von 15° C
Kakaobutter	0,857	Butterfett . . .	0,865—0,868
Palmöl	0,857	Olivenöl	0,9168
Japanwachs	0,8755	Rüböl	0,9168
Kokosnußöl	0,8736	Arachisöl	0,9209
Palmkernöl.	0,8731	Baumwollsamenöl	0,9225
Schweinefett	0,861	Leinöl	0,9325
Rinds- u. Hammeltalg.	0,860	Rizinusöl	0,9679

wenigsten, das Leinöl am höchsten. Das unbewaffnete Auge findet keine charakteristischen Unterschiede in der meist weißlichen oder gelblichen Farbe der Fette und Öle. Analysiert man aber diese Färbungen mit Hilfe des Spektroskopes, so findet man oft charakteristische Spektren, herrührend von Bestandteilen, welche das Fett konstant begleiten und so zur Feststellung der Natur des Fettes beitragen können. Doumer teilt die Öle nach ihrem spektroskopischen Verhalten ein in solche, welche, wie Olivenöl, Hanföl, Nußöl, das Chlorophyllspektrum aufweisen, und solche, die, wie Rizinusöl, Mandelöl, kein charakteristisches Spektrum geben; ferner solche, welche die chemisch wirksamen Strahlen des Spektrums absorbieren, z. B. Rüböl, Leinöl, Senföl, und solche mit verschiedenen Spektren, wie Sesamöl, Mohnöl, Arachisöl, Baumwollsamenöl. *Schmelzpunkt und Erstarrungspunkt* des Fettes können in sehr mannigfaltiger Weise bestimmt werden, wobei man sich immer gegenwärtig zu halten hat, daß das Schmelzen bei den Fetten nicht in so scharfer Weise gekennzeichnet ist, wie bei anderen chemischen Stoffen, sondern daß meistens während eines größeren Temperaturintervalles Verflüssigung und Aufhellung der Fettmasse erfolgt. Der am deutlichsten wahrnehmbare Endpunkt dieses Prozesses, die erreichte vollkommene Durchsichtigkeit des Fettes wird als Schmelzpunkt angesprochen. Sehr verbreitet ist die Schmelzpunktsbestimmung nach Pohl, bei der die Temperatur ermittelt wird, bei welcher das Fett flüssig wird, wobei aber noch feste Teilchen darin herumschwimmen können. Man taucht die Thermometerkugel einen Augenblick in das ein wenig über seinen Schmelzpunkt erhitzte Fett, so daß dieses nach dem Herausnehmen einen dünnen Überzug auf der Thermometerkugel bildet, läßt das Thermometer längere Zeit liegen und befestigt es dann mittels eines Korkes in einer weiten und langen Eprouvette in der Art, daß die Kugel noch etwa 1 cm vom Boden entfernt ist. Die Eprouvette hält man mittels einer Klammer 2—3 cm über einer Asbestplatte, die man mit dem Brenner erwärmt, und beobachtet den Punkt, bei welchem sich am unteren Ende der Kugel ein Tropfen des geschmolzenen klaren Fettes zeigt.

Ferner nimmt man die *Schmelzpunktbestimmung* im Kapillarröhrchen vor, welches sehr dünnwandig und nicht zu eng sein soll. Man saugt 1—2 ccm des Fettes in das Röhrchen ein und befestigt es mittels eines Kautschukfadens so an dem verlängerten Quecksilberbehälter des Thermometers, daß die Fettschicht in einer Höhe mit dem unteren Rande des Quecksilbers steht. Erst wenn die Substanz im Röhrchen vollständig erstarrt ist, bringt man das Thermometer in eine 3 cm weite, lange Eprouvette, in welchem sich das zur Erwärmung

dienende Glyzerin befindet. Der Moment, in dem das Fettsäulchen vollkommen klar und durchsichtig geworden ist, dient als Schmelzpunkt. Über den Erstarrungspunkt der Fette hat R ü d o r f f Beobachtungen angestellt. Wenn man Fette schmelzt und das geschmolzene Fett beständig mit dem Thermometer umrührt, so zeigt sich entsprechend der Tatsache, daß beim Erstarren der geschmolzenen Fette die ,,Schmelzwärme" frei wird, daß die Temperatur beim Abkühlen bis zu einem bestimmten Punkte sinkt, dort eine Zeitlang konstant bleibt und dann wieder sinkt. Während des Erstarrens bleibt die Temperatur konstant, diese Temperatur ist also der Erstarrungspunkt, oder die Temperatur sinkt zunächst und steigt sodann auf ein Maximum, den Erstarrungspunkt, auf welchem sie sich bis zum völligen Festwerden erhält. Zur Bestimmung des Erstarrungspunktes bringt man die Fette in ein entsprechend weites Reagenzglas und schmelzt sie mit eingesetztem, in Zehntelgrad geteiltem Thermometer. Dieses Reagenzglas befestigt man mit einem Kork in einem weiten Rohr, auf dessen Boden sich einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure befinden, welche das Beschlagen der Wände mit Kondenswasser verhindern, wenn die Erstarrungstemperatur unter Zimmertemperatur sinkt. Nun wird der ganze Apparat in ein nicht zu kleines Becherglas mit Wasser getaucht, dessen Temperatur zirka 10 ^{0} C über dem Erstarrungspunkt des Fettes liegt, und man beobachtet den Erstarrungspunkt des Fettes, indem man gleichzeitig das Wasser als auch das geschmolzene Fett beständig mit Glas oder Platindraht durchrührt.

Von *qualitativen Reaktionen, die als Vorprobe* bei der Untersuchung der Fette durchgeführt werden, sei zunächst die schon genannte Elaidinprobe erwähnt. Bei Gegenwart von salpetriger Säure verwandeln sich flüssige Öle in das feste Elaidin. 10 g Öl, 5 g HNO_3 von 40—42 ^{0} Bé, 1 g metallisches Quecksilber werden in eine Eprouvette gebracht und das Quecksilber durch 3 Minuten andauerndes, starkes Schütteln gelöst, dann wird stehen gelassen und nach 20 Minuten wieder 1 Minute lang geschüttelt. Von diesem Zeitpunkte an zeigen die Öle folgendes Verhalten: Olivenöl ist nach 1 Stunde fest, Erdnußöl nach 1^h 20′, Sesamöl nach 3^h 5′, Leinöl bildet einen roten teigigen Schaum, Hanföl bleibt unverändert. Man darf also bei der Elaidinprobe nicht erwarten, daß das Öl sofort oder überhaupt fest oder gar hart werden muß. Olivenöl, Erdnußöl, Mandelöl geben die härtesten Elaidinproben, während die sogenannten trocknenden Öle flüssige Elaidinprodukte liefern. Statt des Quecksilbers wird, wie vorhin erwähnt, auch Kupfer in Spänen verwendet. Übrigens steht die Elaidinprobe in Abhängigkeit von der Temperatur. So braucht Arachisöl bei 14 ^{0} C 13 Minuten zum Erstarren, bei 18—19 ^{0} C dagegen 152 Minuten, Olivenöl bei 14 ^{0} C 15 Minuten, bei 18—19 ^{0} C 67 Minuten. Auch das Eintrocknungsvermögen gibt uns einige Anhaltspunkte zur Identifikation. Ein Tropfen Öl wird auf eine Glasplatte getropft und hier bei Zimmertemperatur oder bei 50 ^{0} C liegen gelassen. 0,1 g Leinöl erfordern bei 50 ^{0} C 12 Stunden, Maisöl 18 Stunden, Baumwollsamenöl 21 Stunden, Rüböl 48 Stunden, Olivenöl über 13 Tage. Alle fetten Öle nehmen freiwillig Sauerstoff aus der Luft auf und die Schnelligkeit der Aufnahme steht in Zusammenhang mit der chemischen Natur des Öles und kann beschleunigt werden durch Hinzufügen von Mangan-, Kupfer- oder Bleiverbindungen. Durch die Sauerstoffaufnahme werden die

Öle schließlich fest, gehen in eine elastische, durchsichtige Masse über, die sogenannten trocknenden Öle, Leinöl, Mohnöl usw., tun dies schon bei gewöhnlicher Temperatur, besonders schnell bei Gegenwart eines Sauerstoffüberträgers, die nicht trocknenden Öle, Rüböl, Olivenöl usw., nur bei höherer Temperatur oder bei Gegenwart eines Sauerstoffüberträgers. So trocknet Olivenöl, das bei 50 ° C über 13 Tage dazu braucht, mit Bleiglätte und Manganborat versetzt und in dünner Schicht ausgebreitet, bei 130 ° schon in einer halben Stunde. Livache hat ein Verfahren ausgearbeitet, um die Gewichtszunahme von Ölen bei der Sauerstoffaufnahme festzustellen, wobei diese durch molekulares Blei, welches aus einem Bleisalz durch Zink ausgefällt worden war, beschleunigt wird. Das abfiltrierte, mit Wasser, Alkohol, Äther gewaschene und getrocknete Bleipulver wird auf einem größeren Uhrglase in der Quantität von 1 g ausgebreitet, gewogen und dazu höchstens 0,6—0,7 g Öl aus einer Pipette so auftropfen gelassen, daß jeder Tropfen für sich auffällt und zwischen den einzelnen Tropfen ein Zwischenraum bleibt. Man läßt nun bei mittlerer Temperatur in einem sehr hellen Raume stehen und bestimmt dann die Gewichtszunahme, welche bei den trocknenden Ölen meist nach 18 Stunden beginnt und nach 3 bis 4 Tagen beendet ist, bei den nicht trocknenden Ölen erst nach 4—5 Tagen anfängt. Die Gewichtszunahme einiger Öle in Prozenten beträgt:

Name des Öles	Gewichtszunahme nach	
	2 Tagen	7 Tagen
Leinöl	14,3	—
Nußöl	7,9	—
Mohnöl	6,8	—
Cottonöl	5,9	—
Bucheckernöl	4,3	—
Kolzaöl	—	2,9
Sesamöl	—	2,4
Arachisöl	—	1,8
Rüböl	—	2,9
Olivenöl	—	1,7

Von *Spezialreaktionen auf einzelne Öle* seien folgende angeführt[1]:

Baumwollsamenöl: Das Öl mit dem gleichen Volumen Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,375 geschüttelt, erzeugt kaffeebraune Färbung.

Nach Halphen werden gleiche Volumteile des Öles, Amylalkohol und Schwefelkohlenstoff, welcher 1 % Schwefel gelöst enthält, in siedender, konzentrierter Kochsalzlösung durch 10—15 Minuten erhitzt; es tritt orange bis rote Färbung ein.

Nach Becchi wird eine Reaktion mit folgenden Lösungen erzielt: 1. 1 g $AgNO_3$, gelöst in 200 ccm 98prozentigen Alkohols und versetzt mit 40 ccm Äther und 0,1 g HNO_3; 2. 15 ccm Kolzaöl, gelöst in 100 ccm Amylalkohol. 10 ccm des zu untersuchenden Öls werden mit 1 ccm von Lösung 1 gemischt und dann 10 ccm von Lösung 2 hinzugefügt. Nach tüchtigem Durchschütteln wird die Mischung in zwei Teile geteilt und die eine Hälfte 1/4 Stunde lang in kochendem

[1]) Näheres findet man in dem Werke von Benedikt-Ulzer: Analyse der Fette und Wachsarten, Berlin 1903.

Wasser erhitzt; die erwärmte Probe wird bei Gegenwart von Cottonöl und nur durch dieses braun. Nach Hirschsohn mischt man 5 ccm des zu prüfenden Öls mit 10 Tropfen einer Lösung von 1 g Goldchlorid in 200 ccm Chloroform und stellt 20 Minuten in kochendes Wasser ein; es zeigt sich eine schöne, rote Färbung.

Für Sesamöl besonders charakteristisch ist die Probe von Baudouin: Man übergießt zirka 0,1 g Zucker mit Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,18 und schüttelt mit dem doppelten Volumen Öl; die kleinsten Mengen Sesamöl geben eine tiefrote Färbung, nach dem Absetzen ist die wässerige Schicht rot gefärbt. Diese Probe, welche auf der Entstehung von Furfurol aus dem Zucker beruht, kann ebenso gut mit einer 2prozentigen alkoholischen Lösung von Furfurol unter Zufügung von Salzsäure ausgeführt werden.

Soltsien verfährt zum Nachweis von Sesamöl folgendermaßen: Zu 2—3 Volumteilen des Öles wird ein Volumteil mit Salzsäure versetzter Zinnchlorürlösung gefügt und das Öl damit kräftig durchgeschüttelt, bis eine Emulsion entsteht. Die Eprouvette wird dann in ein heißes Wasserbad gestellt, wo sich die Zinnchlorürlösung schnell absetzt; sie ist je nach dem Vorhandensein von Sesamöl hellhimberrot bis dunkelweinrot gefärbt; diese Reaktion gehört zu den prägnantesten und zuverlässigsten Farbenreaktionen auf Fette. Bei der Analyse des Fettes sucht man zunächst die Natur der mit dem Glyzerin verbundenen Fettsäure festzustellen, man „verseift" das Fett, indem man es am Rückflußkühler mit alkoholischer Natronlauge erhitzt, bis sich das Reaktionsprodukt klar mit Wasser mischt. Sehr häufig gelingt das aber nicht, nämlich dann, wenn unverseifbare, wasserunlösliche Stoffe, wie Phytosterine oder freie, höhere Fettalkohole, zugegen sind. Diese unverseifbaren Bestandteile fallen beim Verdünnen mit Wasser aus und können mit Äther ausgeschüttelt werden. Die Phytosterine geben — auf ihre nähere Charakterisierung wollen wir hier nicht eingehen — eine Reihe von Farbenreaktionen, welche übrigens nicht bei allen Phytosterinen in der gleichen Weise auftreten. Diese Farbenreaktionen sind: 1. Wenn man Phytosterin in Chloroform löst und konzentrierte Schwefelsäure zusetzt, so färbt sich das Chloroform blutrot (Hesses Reaktion); 2. Übergießt man Phytosterin mit einer Mischung von einem Teil Wasser und fünf Teilen Schwefelsäure, so treten rote bis violette Färbungen ein, die sich bei Zusatz von Jodlösung verändern (Moleschotts Reaktion); 3. Löst man Phytosterin in heißem Essigsäureanhydrid und gibt zu der erkalteten Flüssigkeit einige Tropfen Schwefelsäure, so tritt Blaufärbung ein (Liebermanns Reaktion); 4. Eine Mischung von neun Teilen Trichloressigsäure und einem Teil Wasser gibt, mit Phytosterin bis zum Aufkochen erhitzt, rote bis violette Färbung (Hirschsohns Reaktion); 5. Eindampfen mit konzentrierter Salzsäure und Eisenchlorid liefert nach dem Auswaschen mit Wasser rote oder blaue Färbung (Machsche Reaktion).

Quantitative Reaktionen: Es werden dabei die verschiedenen Konstituenten des Fettes quantitativ festgestellt und folgende Zahlen bestimmt: 1. die Säurezahl als Maß für den Gehalt an freien Fettsäuren; 2. die Verseifungszahl als Maß für die Sättigungskapazität der gesamten Fettsäuren; 3. die Ätherzahl als Maß für den Gehalt an Triglyzeriden und anderen Fettsäureestern; 4. die Reichert-Meißlsche Zahl für den Gehalt an

flüchtigen Fettsäuren; 5. *die Hehnersche Zahl*, das ist die in Prozenten ausgedrückte Menge der unlöslichen Fettsäuren; 6. *die Azetylzahl* als Maß für den Gehalt von Oxyfettsäuren oder freien Alkoholen; 7. *die Jodzahl* als Maß für den Gehalt an ungesättigten Fettsäuren.

1. *Die Säurezahl* gibt die Menge Kalihydrat in Zehntelprozenten oder in Anzahl Milligrammen KOH für 1 g Fett an, welche zur Neutralisation der in einem Fett befindlichen, freien Fettsäuren notwendig ist und bildet daher ein Maß für den Gehalt des Fettes an freien Fettsäuren. Das Öl wird zu diesem Zweck in einer Mischung von Äthyl- und Amylalkohol 1 : 2 oder in einer Mischung von Alkohol und Äther gelöst und mit alkoholischer oder wässeriger Lauge unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator titriert. Die zur Lösung des Fettes verwendete Flüssigkeit muß natürlich säurefrei sein; die Titration ist beendigt, wenn die Lösung einige Minuten rot bleibt, nach einiger Zeit tritt Entfärbung ein, welche aber nicht mehr beachtet werden darf. *Beispiel*: Für 25 ccm Olivenöl von 0,917 spezifischem Gewicht sind 9·4 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge verbraucht worden; 1 ccm $\frac{n}{10}$ Lauge enthält 0,0056 g KHO, somit ist die Säurezahl $S = \frac{0{,}0056 \times 9 \cdot 4}{22{,}925} \cdot 1000 = 2.3$, da 25 ccm des Öles $25 \times 0{,}971 = 22{,}925$ g wiegen.

2. *Die Verseifungszahl* oder *Köttsdorferzahl* gibt an, wieviel Milligramm KOH zur vollständigen Verseifung von 1 g des Fettes erforderlich sind, d. i. die zur Verseifung des Fettes notwendige Kalihydratmenge in Zehntelprozenten. Zu ihrer Bestimmung hält man eine sehr genaue, zirka $\frac{n}{2}$ Salzsäure und eine alkoholische *Kali*lauge (nicht Natronlauge) vorrätig, indem man zirka 30 g aus Alkohol gereinigten, gepulverten Ätzkalis durch Kochen am Rückflußkühler in 1000 ccm fuselfreien 95prozentigen Alkohols auflöst, einen Tag stehen läßt und in eine Flasche filtriert, welche mit einem durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen ist. In diese Bohrung wird eine 25 ccm-Pipette eingesetzt, welche oben ein Stück Schlauch mit Quetschhahn trägt. Die Bestimmung der Verseifungszahl wird folgendermaßen ausgeführt: 2—2,25 g des filtrierten Fettes werden in einem weithalsigen Kolben von 150—200 ccm Inhalt abgewogen. Dann hebt man mit der Pipette 25 ccm Kalilauge heraus und läßt dieselben in den Kolben fließen; man läßt jedesmal genau gleichviel zufließen, wobei es aber nichts ausmacht, ob etwas mehr oder weniger als 25 ccm der Kalilauge verwendet werden. Nun fügt man 25 ccm genau neutralisierten Alkohols zu, versieht das Kölbchen mit einem Glasrohr, welches als Rückflußkühler dient, erwärmt auf dem schon vorher angeheizten Wasserbad unter öfterem Umschwenken zum schwachen Sieden, erhält 15—30 Minuten im Kochen und titriert nach Zusatz von 1 ccm alkoholischer Phenolphthaleinlösung die heiße Seifenlösung mit $\frac{n}{2}$ Salzsäure zurück. Bei dunkler Färbung des Öles ist es zweckmäßig, statt des Phenolphthaleins Alkaliblau 6 B als Indikator zu benutzen, dessen alkalische Lösung rot und dessen saure Lösung blau gefärbt ist. Von diesem Farbstoff werden zirka 2—3 ccm einer zweiprozentigen alkoholischen Lösung verwendet und der abzutitrierenden

Flüssigkeit vorher zirka 50 ccm neutralisierten Alkohols zugesetzt. Die Differenz zwischen der angewendeten und der durch Zurücktitrieren gefundenen Anzahl Milligramm KOH wird auf 1 g Fett umgerechnet. Das Resultat ist die Verseifungszahl. Beispiel: 2,012 g Olivenöl werden mit 25 ccm alkoholischer Kalilauge verseift und zum Zurücktitrieren 9,65 ccm Salzsäure verbraucht; 25 ccm alkoholischer Kalilauge = 22,5 ccm Salzsäure, 1 ccm Salzsäure = 0,0301 g KOH. Somit wurden zur Verseifung verbraucht die 22,5 — 9,65 = 12,85 ccm Salzsäure äquivalente Menge KOH, d. i. 12,85 × 0,0301 = 386,8 mg für 2,012 g Öl oder 386,8 : 2,012 = 192,24 mg KOH für 1 g Öl. Somit hat das untersuchte Öl die Verseifungszahl 192,24. Es gibt Fette, welche beim Kochen mit Kalilauge sehr dunkle Lösungen geben, die sich nicht titrieren lassen, weil der Indikator keine Färbung erkennen läßt. Für solche Fälle dient die kalte Verseifung von Henriques, bei der 3—4 g der Substanz in einem Kolben in der Kälte in 25 ccm Petroläther gelöst werden, mit 25 ccm alkoholischer n-Kalilösung versetzt und nach dem Umschwenken 12 Stunden bei Zimmertemperatur verschlossen stehen gelassen. Dann wird der Überschuß des Alkalis wie früher zurücktitriert. Bei der Bestimmung der Verseifungszahl erhält man aber auch neben der bei der Verseifung gebundenen Ätzkalimenge auch die Menge Kalihydrat, welche von den im Fett etwa vorhandenen freien Fettsäuren gebunden wird. Will man dies zum Ausdruck bringen, so subtrahiert man von der Verseifungszahl die Säurezahl und erhält so die

3. Ätherzahl: diese gibt also die Anzahl Milligramme Ätzkali an, welche zur Verseifung der neutralen Ester in 1 g Fett nötig sind.

4. Die Reichert-Meißlsche Zahl gibt die Anzahl Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$ Kalilauge, welche zur Neutralisation der leicht flüchtigen Fettsäuren von 5 g eines Fettes erforderlich sind. 5 g Fett werden in einem Kölbchen von zirka 200 ccm Inhalt mit zirka 2 g festem Ätzkali und 50 ccm 70prozentigen Alkohols unter Schütteln am Wasserbade verseift, bis zur vollständigen Verflüchtigung des Alkohols eingedampft, der dicke Brei in 100 ccm Wasser gelöst, mit 40 ccm Schwefelsäure 1 : 10 versetzt und nach Zugabe einiger kleiner Bimssteinstücke durch ein mit angeschmolzener Kugel (zur Verhinderung des Überspritzens) versehenes und mit einem Kühler in Verbindung stehendes Rohr abdestilliert. Man fängt 110 ccm des Destillates in einem kubizierten Kolben auf, mischt, filtriert davon 100 ccm in einem anderen kubizierten Kolben ab und titriert mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge unter Verwendung von Lackmus oder Phenolphthalein als Indikator. Man vergrößert die verbrauchte Anzahl Kubikzentimeter um ein Zehntel und bezieht das Resultat auf 5 g Substanz.

Bestimmung der in Wasser löslichen Fettsäuren: 1,5—2 g des Fettes werden in einem Erlenmeyerkolben mit 25 ccm $\frac{n}{2}$ alkoholischer Kalilauge verseift und das überschüssige Kali mit Salzsäure gegen Phenolphthalein genau neutralisiert. Es hat sich Kaliseife gebildet, welche nach Abdampfen des Alkohols in 40 ccm Wasser gelöst wird. Zu dieser Seifenlösung setzt man von neuem genau

soviel Salzsäure, als der bei der Verseifung verbrauchten Menge KOH entspricht. Dadurch sind die Fettsäuren in Freiheit gesetzt worden, der Kolben wird mit einem Stöpsel verschlossen, in dessen Bohrung ein mit Wasser gefülltes U-Rohr steckt und nun am Wasserbade vorsichtig erwärmt, bis sich die unlöslichen Fettsäuren an der Oberfläche angesammelt haben. Nach dem Erkalten filtriert man durch ein nasses Filter und wäscht solange mit Wasser, bis das Waschwasser empfindliches blaues Lackmuspapier nicht mehr rötet, wozu zirka 100 ccm Wasser verbraucht werden. Empfindlichen Lackmusfarbstoff stellt man her, indem man den käuflichen Farbstoff wiederholt mit heißem, destilliertem Wasser behandelt. Die wässerigen Auszüge werden zur Zersetzung vorhandener Karbonate mit Essigsäure gelinde übersättigt und am Wasserbade bis zur Konsistenz eines dicken Extraktes, aber nicht zur Trockene eingedampft; der Rückstand wird allmählich mit 90prozentigem Alkohol verdünnt, das Gemisch in einen Kolben gebracht und reichlich 90prozentiger Alkohol dazugefügt. Dadurch wird der gegen Säuren und Basen sehr empfindliche Farbstoff gefällt, während ein weniger empfindlicher Farbstoff nebst Kaliazetat in Lösung bleiben. Man filtriert und wäscht mit Alkohol aus, der Farbstoff wird unter Erwärmen in destilliertem Wasser gelöst und die Lösung filtriert. Wenn man durch die in einer Schale befindliche Lösung des Farbstoffes Streifen feinen ungeleimten Papiers zieht, erhält man das Reagenzpapier; bevor das Papier getränkt wird, taucht man einen Glasstab in sehr verdünnte Schwefelsäure oder Natronlauge und rührt damit in der Farbstofflösung, wodurch diese rot oder blau gefärbt wird. Phenolphthaleinindikator bereitet man in der Weise, daß man 1 g Phenolphthalein in 100 ccm 96prozentigen Alkohols löst, bei Methylorange 0,1 g in 100 ccm Wasser auflöst.

Zum Filtrat fügt man die im U-Rohr befindliche Flüssigkeit, dann werden Filtrat und Waschwasser mit Phenolphthalein versetzt und mit Zehntelnormallauge titriert. Die verbrauchten Milligramme KOH geben uns die in der verwendeten Fettmenge vorhandenen löslichen Fettsäuren an; man berechnet auf 1 g Fett und zieht die gefundene Zahl von der Verseifungszahl ab, wodurch man die Azidität der in Wasser unlöslichen Fettsäuren angibt.

Um die in Wasser unlöslichen Fettsäuren direkt zu bestimmen, wägt man das Öl in einem kleinen Becherglas mit Glasstab zusammen, gießt davon 3—4 g in eine größere Porzellanschale ab, worauf das genaue Gewicht durch Zurückwägen des Becherglases festgestellt wird. Das Öl in der Porzellanschale wird dann mit 1—2 g Ätzkali und 50 ccm Alkohol versetzt und am Wasserbad unter öfterem Umschütteln erwärmt, bis alles Öl verseift ist, die Seifenlösung bis zum dicken Sirup eingedampft, der Rückstand in 100—150 ccm Wasser gelöst und mit Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuert. Durch Erhitzen bewirkt man, daß sich die Fettsäuren als klares Öl auf der Oberfläche sammeln, und filtriert durch ein vorher bei 100 ^{0} getrocknetes und gewogenes quantitatives Filter; das Papier wird zunächst zur Hälfte mit heißem Wasser gefüllt und dann erst die Fettsäuren darauf gegossen: dadurch wird ein trübes Durchlaufen vermieden. Man wäscht mit siedendem Wasser, bis blaues Lackmuspapier vom Filtrat nicht mehr gerötet wird, und gießt immer so auf, daß ein neuer Aufguß erfolgt, bevor noch der Filter ganz entleert war. Darauf wird der Trichter

samt Filter in ein mit kaltem Wasser beschicktes Becherglas gestellt, so daß die Fettsäuren erstarren; das Wasser läßt man vorsichtig ablaufen, so daß nichts von der Fettsäurekruste mitgeschwemmt wird, bringt Filter nebst Fettsäuren in das Wägegläschen zurück, trocknet bei 100 ^{0} C durch zwei Stunden, wägt dann, trocknet noch einmal zwei Stunden und wägt wieder: das Gewicht, auf 100 g Fett bezogen, ist

5. die Hehnersche Zahl. Das Fett wird unter Erwärmen in Alkohol gelöst und mit $\frac{n}{2}$ KOH bis zur Rotfärbung von Phenolphthalein titriert, worauf man durch Vergleich mit der Verseifungszahl feststellen kann, wieviel von den Säuren des Fettes sich in Wasser gelöst hat. Die Hehnersche Zahl gibt also die Menge der unlöslichen Fettsäuren an, welche 100 Teile Fett (Öl) liefern können.

6. Die Azetylzahl der Fettsäuren gibt die Anzahl der Milligramme Ätzkali an, welche zur Neutralisation der aus 1 g der azetylierten Fettsäuren durch Verseifung erhaltenen Essigsäure notwendig ist. Sie ist ein Maß für die in einem Fett in freiem Zustande vorhandenen Hydroxylgruppen und gibt demnach die Menge der im Fette vorliegenden Oxysäuren und hochmolekularen Alkohole an. Nach Lewkowitsch geht man in der Weise vor, daß man 5 g Fett mit 5 g doppeltgeschmolzenen Natriumazetats und 15—20 g Essigsäureanhydrid in einem Erlenmeyerkolben am Rückflußkühler 1—2 Stunden zum schwachen Sieden erhitzt. Dann gießt man das azetylierte Produkt in ein Becherglas mit Wasser und erhitzt bis fast zum Sieden. Bei Gegenwart von Lezithin pflegt sich das azetylierte Produkt nicht gut abzuscheiden; man erhitzt dann nach Zusatz von etwas Kochsalz im Kohlensäurestrom. Das abgeschiedene Öl gießt man durch ein nasses Filter und wäscht mit warmem Wasser, löst das gewaschene Öl in Äther, schüttelt einigemal mit Wasser, um die letzten Reste der Essigsäure zu entfernen, und filtriert die ätherische Fettlösung durch ein trockenes Filter in ein gewogenes Kölbchen, aus dem der Äther abdestilliert wird. Der Rückstand wird im Kohlensäurestrom getrocknet; einen Teil des Fettes (1,5—2 g) bringt man in ein anderes Kölbchen, bestimmt das Gewicht des Abgefüllten durch Zurückwägen und bestimmt in dieser Probe: 1. die Azidität, 2. die Ätherzahl, 3. die Menge der löslichen Fettsäuren. Die Azidität des Filtrates oder Destillates nach Lewkowitsch' Filtrationsverfahren, das vorhin geschildert wurde, ausgedrückt in Milligrammen KOH und bezogen auf 1 g Fett, ist die Azetylzahl. Statt des Fettes kann man auch das Fettsäuregemisch, nach der Verseifung aus dem Fett gewonnen, zum Azetylieren benutzen. Beispiel: 3,379 g azetylierter Fettsäure aus Rizinusöl verbrauchten zur Absättigung 17,2 ccm $\frac{n}{2}$ Kalilauge $= 17{,}2 \times 0{,}02805$ g $= 0{,}4825$ g KOH, woraus sich die Azetylsäurezahl $482{,}5 : 3{,}379 = 142{,}5$ ergibt. Zu der neutralisierten Probe wurden noch 32,8 ccm, im ganzen also 50 ccm KOH zufließen lassen. Nach dem Kochen wurde mit 14,3 ccm $\frac{n}{2}$ HCl zurücktitriert. Daher verbleiben zur Absättigung der abgespaltenen Essigsäure $32{,}8 - 14{,}3 = 18{,}5$ ccm $\frac{n}{2}$ KOH oder $18{,}5 \times 0{,}02805 = 0{,}5189$ g KOH, woraus sich die Azetylzahl $518{,}9 : 3{,}379 = 153{,}5$ ergibt.

7. Die Jodzahl gibt an, wieviel Prozent Jod ein Fett aufzunehmen vermag und bildet demnach, da nur ungesättigte Verbindungen Halogene addieren, ein Maß für den Gehalt eines Fettes an ungesättigten Fettsäuren, an Ölsäure, Linolsäure, Linolensäure, Cholesterin u. a. Die Methode beruht auf der Messung des durch die Fette gebundenen und so zum Verschwinden gebrachten Jodes. Dieses Halogen wirkt bei gewöhnlicher Temperatur nur sehr träge auf die Fette ein, in der Wärme ist seine Wirkung sehr ungleichmäßig. Dagegen reagiert eine alkoholische Jodlösung bei Gegenwart von Quecksilberchlorid schon bei gewöhnlicher Temperatur sehr gleichmäßig mit den ungesättigten Fettsäuren und deren Glyzeriden. Folgende Lösungen sind notwendig: 1. Die Jodlösung. Man löst einerseits 25 g Jod, andererseits 30 g Quecksilberchlorid in je 500 ccm 95prozentigen fuselfreien Alkohols, filtriert, wenn nötig, die letztere Lösung und vereinigt beide. Die Flüssigkeit darf erst nach 24stündigem Stehen in Gebrauch genommen werden, da sich der Titer anfangs rasch ändert; überhaupt sollte der Titer vor jeder Versuchsreihe neu gestellt werden. Eine beständigere Jodlösung resultiert nach Waller, wenn man zu je einem Liter der Mischflüssigkeit 50 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 zusetzt. 2. Natriumthiosulfatlösung: Sie enthält im Liter zirka 24 g des Salzes und man stellt den Titer am besten mit Kaliumbichromat oder Kaliumbijodat. 3,8707 g reinsten gepulverten $K_2Cr_2O_7$ werden in einem Liter Wasser gelöst und man läßt davon 20 ccm in eine Stöpselflasche fließen, in welche man vorher 15 ccm 10prozentiger Jodkalilösung und 5 ccm Salzsäure gebracht hat. Jeder Kubikzentimeter reinster Bichromatlösung macht genau 10 mg Jod frei, so daß 20 ccm 200 mg Jod ausscheiden, welche dann mit der zu stellenden Thiosulfatlösung titriert werden, indem man von dieser aus einer Bürette zufließen läßt, bis ein Tropfen mit etwas Jodzinkstärkelösung oder Stärkekleister gerade Blaufärbung hervorruft. Oder man löst 1,6254 g reinsten Kalibijodats in Wasser und füllt auf 500 ccm auf. Dann bringt man 1—2 g reinsten Jodkalis in ein Becherglas, löst das Salz in möglichst wenig Wasser, fügt 5 ccm Salzsäure 1 : 5 hinzu und dann erst 20 ccm der Kalibijodatlösung. Es scheiden sich 20 × 12,68 mg Jod ab. Man verdünnt mit 200 ccm Wasser und läßt aus der Bürette unter Umrühren Thiosulfatlösung zufließen, bis die Lösung nur noch schwach gelb gefärbt ist, setzt jetzt etwas Stärkelösung dazu und läßt weiter tropfenweise Thiosulfatlösung zufließen, bis die Blaufärbung beim energischen Schütteln eben verschwindet. Man erfährt so die Anzahl der Kubikzentimeter Natriumthiosulfatlösung, die erforderlich sind, um 0,2536 g Jod zu reduzieren und berechnet hieraus den Titer für 1 ccm der Thiosulfatlösung. 3. Chloroform, das in der Weise auf seine Reinheit geprüft wird, daß man 10 ccm desselben mit 10 ccm Jodlösung versetzt und nach 2—3 Stunden die Jodmenge sowohl in dieser Mischung, als in 10 ccm der Vorratslösung maßanalytisch bestimmt; stimmen die erhaltenen Zahlen überein, so ist das Chloroform brauchbar. 4. Jodkalilösung, die auf zehn Teile Wasser einen Teil Jodkali enthält. 5. Stärkelösung, indem man 0,5 g pulverisierter Stärke in 100 ccm Wasser kocht, bis eine dünnflüssige, opaleszierende Flüssigkeit resultiert; zweckmäßiger ist es, eine haltbare Jodzinkstärkelösung folgendermaßen herzustellen: 5 g Stärkemehl werden mit 20 g $ZnCl_2$ und mit 100 ccm destillierten Wassers unter Ergänzung des verdampfenden Wassers mehrere Stunden solange ge-

kocht, bis die Stärkehäutchen völlig gelöst sind, dann werden 2 g trockenen ZnJ_2 zugesetzt, auf einen Liter verdünnt und filtriert. Die Filtration geht langsam vor sich, man erhält aber eine klare Flüssigkeit, die wohl nach einigen Wochen einige Flocken absetzt, aber, in wohlverschlossenen Gefäßen im Dunkeln aufbewahrt, dauernd farblos bleibt. Außerdem kann auch wasserlösliche Stärke, in destilliertem Wasser gelöst, verwendet werden.

Die Bestimmung wird folgendermaßen vorgenommen: man bringt von trocknenden Ölen 0,1—0,12 g, von nicht trocknenden Ölen 0,2—0,3 g, von festen Fetten zirka 0,5 g, von Kokosöl und Palmkernöl 1 g in eine 500—800 ccm fassende, trockene, mit gut eingeriebenem Stöpsel versehene Glasflasche, löst in zirka 15 ccm Chloroform und läßt mittels der in die Vorratsflasche eingesetzten Pipette 25 ccm Jodlösung zufließen, wobei man die Pipette bei jedem Versuch in genau gleicher Weise entleert, d. h. stets dieselbe Tropfenzahl zufließen läßt. Zieht man es vor, größere, z. B. die doppelte Fettmenge abzuwägen, so läßt man 50 ccm Jodlösung zufließen. Sollte die Flüssigkeit nach dem Umschwenken nicht völlig klar sein, so wird noch etwas Chloroform hinzugefügt. Tritt binnen kurzer Zeit fast vollständige Entfärbung der Flüssigkeit ein, so muß man noch 25 ccm Jodlösung zufließen lassen; die Flüssigkeit muß nach zwei Stunden jedenfalls noch stark braun gefärbt erscheinen. Obwohl die Reaktion nach dieser Zeit beendet ist, läßt man noch vier Stunden stehen, versetzt dann mit 20 ccm Jodkalilösung 1 : 10, schwenkt um und fügt 150 ccm Wasser hinzu. Scheidet sich dabei rotes Quecksilberjodid aus, so war die zugesetzte Jodkalimenge ungenügend; man muß dann nachträglich noch Jodkali dazugeben. Nun läßt man unter oftmaligem Umschwenken solange Thiosulfatlösung zufließen, bis die wässerige Flüssigkeit und die Chloroformlösung nur mehr schwach gefärbt erscheinen. Nun wird der Stärkeindikator zugesetzt und zu Ende titriert. Unmittelbar vor oder nach der Operation wird in einer blinden Probe der Titer von 25 ccm der Jodlösung in ebenderselben Weise mit Thiosulfatlösung bestimmt. Aus der Differenz beider Bestimmungen berechnet man die Menge Jod und bezieht sie auf 100 Teile Fett. Die Jodlösung soll nur solange benutzt werden, als 25 ccm derselben noch mindestens 35 ccm der $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung beanspruchen. Die Zahlen sind ganz konstant, wenn die Jodlösung in genügendem Überschuß vorhanden war; der Überschuß soll 100—160 % nach sechs Stunden betragen.

Quantitative Bestimmung einzelner Bestandteile der Fette: man bestimmt freie Fettsäuren und Glyzerin. Zur *gewichtsanalytischen Bestimmung des Fettsäuregehaltes* übergießt man einige Gramme der Probe mit heißem Alkohol, setzt Phenolphthalein zu und neutralisiert die freie Säure genau mit verdünnter Lauge, die man aus einer Bürette zufließen läßt, wobei man gleichzeitig mit der titrierten Lauge die Säurezahl ermittelt. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit Petroläther extrahiert. Die Petrolätherschicht schüttelt man wiederholt mit Wasser, ohne jedoch dieses mit der abgezogenen Flüssigkeit zu vereinigen. Der Petroläther wird dann zuerst in einen trockenen Kolben gegossen, an dessen Wände sich noch Wassertropfen ansetzen, und dann erst in einen gewogenen Kolben umgeleert. Nach-

dem man die Flüssigkeit in dieser Weise wiederholt mit Petroläther extrahiert hat, wird dieser abdestilliert, der Rückstand getrocknet und als Neutralfett gewogen. Aus der Differenz ergibt sich der Gehalt an Fettsäuren. Oder man bringt die Seifenlösung samt den Waschwässern in den Scheidetrichter, fügt verdünnte Schwefelsäure bis zur stark sauren Reaktion hinzu, schüttelt mit Petroläther wiederholt aus und verfährt mit den Auszügen so wie oben angegeben wurde.

Ist die Jodzahl gleich Null, so sind keine flüssigen, ungesättigten Fettsäuren vorhanden; erhält man eine Jodzahl, so führt man eine Trennung von festen und flüssigen Fettsäuren durch; zum qualitativen Nachweis von festen Fettsäuren (Palmitinsäure, Stearinsäure) in einem Öl verseift man mit alkoholischer Kalilauge, fügt Phenolphthalein hinzu, neutralisiert mit Essigsäure, filtriert und vermischt das Filtrat mit zwei Gewichtsteilen Äther und alkoholischer Bleiazetatlösung. Sind feste Fettsäuren zugegen, so entsteht ein weißer Niederschlag. Zur quantitativen Trennung flüssiger und fester Fettsäuren benutzt man die Eigenschaft der Bleisalze der unlöslichen, flüssigen Fettsäuren (Ölsäure, Linolsäure usw.), sich in Äther aufzulösen, während die Bleisalze der festen Fettsäuren (Palmitinsäure, Stearinsäure usw.) darin nur in äußerst geringen Mengen löslich sind. Nach Kremel wägt man 2—3 g der Probe in einem weithalsigen Kolben von 100—150 ccm Inhalt ab und verseift mit beiläufig derselben Menge Ätzkali und 10 ccm 95prozentigen Alkohols auf dem Wasserbad. Hierauf setzt man etwas Wasser und 1—2 Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu und neutralisiert genau mit Essigsäure. Der Alkohol wird auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand in zirka 80 ccm heißen Wassers gelöst und mit Bleizucker gefällt; die Bleiseifen legen sich beim Umschwenken vollkommen an die Kolbenwandung an. Nach dem Erkalten gießt man die Flüssigkeit durch ein mittleres Filter ab und wäscht einigemal mit heißem Wasser. Nun schmelzt man den Kolbeninhalt auf dem Wasserbad, läßt erkalten, gießt das Wasser, welches sich angesammelt hat, gleichfalls durch das Filter und trocknet die Kolben samt Inhalt und Filter bei gelinder Wärme. Nun behandelt man den Kolbeninhalt mit Äther und filtriert die Flüssigkeit, welche die Bleisalze der flüssigen Fettsäuren gelöst enthält, durch das vorher benutzte Filter in ein gewogenes Porzellanschälchen ab, wobei man das Filter gut bedeckt hält. Man spült Kolben und Filter gut mit Äther nach, läßt die Ätherlösung in der Schale verdunsten, trocknet den Rückstand erst bei gelinder Wasserbadwärme, dann über Schwefelsäure und wägt. In einem gewogenen Teil bestimmt man den Bleioxydgehalt, indem man ihn in der gewogenen Porzellanschale vorsichtig verbrennt und den Rückstand, der nach dem Glühen ein Gemenge von Bleioxyd und Blei ist, wägt. Man behandelt ihn dann mit warmer Essigsäure, bis alles Oxyd vollständig gelöst ist, und wäscht das metallische Blei durch Dekantation. Nachdem man das Waschwasser möglichst vollständig abgegossen hat, trocknet man den Tiegel samt dem darin enthaltenen Blei und wägt. Die Differenz der beiden Wägungen gibt die Menge des im Glührückstand enthalten gewesenen Bleioxyds, das man auf Blei umrechnet und zu dem Gewichte des direkt erhaltenen Bleis addiert. Den erhaltenen Bleioxydgehalt zieht man vom Gewichte des Rückstandes der Ätherlösung ab. Die Differenz gibt das Gewicht der Anhydride der flüssigen Fettsäuren.

Um daraus das Gewicht der flüssigen Fettsäuren selbst zu erfahren, muß man noch das der gefundenen Bleioxydmenge A äquivalente Wasserquantum hinzuaddieren, welches man erhält, wenn man A mit $\frac{18}{223} = 0,0807$ multipliziert. Das Filter wird nun ausgebreitet, damit sich der Äther verflüchtigen kann, worauf sich die Bleiverbindungen der festen Fettsäuren leicht vom Filter ablösen und vollständig in den Kolben zurückbringen lassen. Man zersetzt sie durch Kochen mit verdünnter Salzsäure und schüttelt nach dem Erkalten mit Äther aus, läßt die Ätherlösung verdunsten und wägt den Rückstand.

G l y z e r i n b e s t i m m u n g: Wollen wir in einem fettähnlichen Gemisch den Anteil an wirklichem Fett bestimmen, so müssen wir eine Glyzerinbestimmung durchführen. Zum qualitativen Nachweis des Glyzerins kann schon der unangenehme, charakteristische Akroleingeruch (Geruch nach „angebranntem" Fett) dienen, der beim raschen Erhitzen des Glyzerins oder Fettes für sich oder besser beim Erhitzen der Mischung von Glyzerin und saurem schwefelsaurem Kali auftritt. Ferner färbt eine mit Glyzerin oder glyzerinhaltiger Flüssigkeit befeuchtete Boraxperle die Flamme des Bunsenbrenners grün. Glyzerin treibt Borsäure aus Boraxlösungen aus: die zu prüfende Flüssigkeit und eine Boraxlösung werden mit einigen Tropfen Lackmustinktur blau gefärbt und miteinander vermischt. Bei Gegenwart von Glyzerin tritt dabei durch die freigewordene Borsäure Rotfärbung ein. Beim Erwärmen wird die Flüssigkeit blau, beim Erkalten neuerdings rot. Beim Erhitzen von Glyzerin mit Phenolen und Schwefelsäure auf 120 ^{0} entstehen Farbstoffe: in einer Eprouvette werden zwei Tropfen Glyzerin, zwei Tropfen geschmolzenes Phenol und ebensoviel konzentrierte Schwefelsäure sehr vorsichtig etwas über 120 ^{0} C erhitzt, wobei sich in der harzartigen Schmelze bald eine braune, feste Masse bildet, die sich nach dem Abkühlen mit prachtvoll karmoisinroter Farbe in Ammoniak löst. Kocht man eine kleine Menge Glyzerin oder der auf Glyzerin zu prüfenden Substanz mit wenig Pyrogallol und mehreren Tropfen einer mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnten Schwefelsäure, so färbt sich die Flüssigkeit bei Gegenwart von Glyzerin deutlich rot, nach Zusatz von Zinnchlorid violettrot. Kohlehydrate und einige Alkohole geben ähnliche Färbungen; die Möglichkeit ihrer Anwesenheit muß also ausgeschlossen sein.

Zum *quantitativen Nachweis des Glyzerins* kann man die Oxydation mit Kaliumpermanganat verwenden. Ein Molekül Glyzerin liefert quantitativ genau je ein Molekül Oxalsäure und Kohlensäure, wenn man Glyzerin in stark alkalischer Lösung bei gewöhnlicher Temperatur mit Permanganat oxydiert. Darauf beruht das Glyzerinbestimmungsverfahren von B e n e d i c t und Z s i g m o n d y. 2—3 g Fett werden mit Kalilauge und reinem Methylalkohol verseift, der Alkohol auf dem Wasserbad verjagt, der Rückstand in heißem Wasser gelöst und die Seife unter Erwärmen mit verdünnter Salzsäure zerlegt. Dann erwärmt man, bis sich die Fettsäuren klar abgeschieden haben, bei flüssigen Fetten setzt man zweckmäßig etwas hartes Paraffin zu, um die obenauf schwimmenden Fettsäuren bei dem nun folgenden Abkühlen, welches durch Einstellen der Schale in kaltes Wasser bewirkt wird, zum Erstarren zu bringen. Man läßt erkalten, filtriert in einen geräumigen Kolben, wäscht gut nach, neutralisiert nach Zusatz eines Tropfens

Methylorange mit Kalilauge und setzt noch 10 g Ätzkali hinzu. Dann läßt man bei gewöhnlicher Temperatur soviel einer zirka 5prozentigen Kaliumpermanganatlösung zufließen, bis die Flüssigkeit nicht mehr grün, sondern blau oder schwärzlich gefärbt ist. Statt dessen kann man auch fein gepulvertes Permanganat eintragen. Auf einen Teil Glyzerin entfallen rund sieben Teile Permanganat. Man läßt eine halbe Stunde bei gewöhnlicher Temperatur stehen und setzt dann nach Mangold unter Vermeidung eines größeren Überschusses Wasserstoffsuperoxyd hinzu, bis die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit farblos geworden ist. Man füllt dann auf 1000 ccm auf, schüttelt um und filtriert 500 ccm durch ein trockenes Filter. Das Filtrat wird in einem Kochkolben eine halbe Stunde lang erhitzt, um alles Wasserstoffsuperoxyd zu zerstören, auf etwa 60 ° C abkühlen gelassen und nach Zusatz von Schwefelsäure mit gestellter Kaliumpermanganatlösung titriert. Oder man säuert mit Essigsäure an, erhitzt bis zum Sieden und fällt mit 10 ccm einer 10prozentigen Kalziumchlorid- oder Kalziumazetatlösung zunächst die Oxalsäure aus. Der Niederschlag wird abfiltriert, aber das Kalziumoxalat nicht gravimetrisch bestimmt, da es mit Kieselsäure verunreinigt sein kann, sondern maßanalytisch. Man glüht, löst den Rückstand in einer überschüssigen Menge titrierter Salzsäure und titriert den Überschuß mit gestellter Kalilauge unter Anwendung von Methylorange als Indikator zurück. 112,2 Teile Kalihydrat entsprechen 92 Teilen Glyzerin.

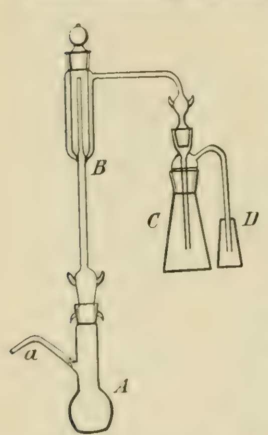


Fig. 64. Apparat nach Zeisel-Fanto.

Bestimmung des Glyzerins nach Zeisel-Fanto durch Überführen in Isopropyljodid: Diese Methode beruht auf der Umwandlung in flüchtiges Alkyljodid unter der Einwirkung kochender, wässeriger Jodwasserstoffsäure vom spezifischen Gewicht 1,7, dessen Dampf, von begleitendem Jod und Jodwasserstoff befreit, in alkoholischer Silbernitratlösung aufgefangen wird. Mit dieser setzt es sich zur äquivalenten Menge Silberjodid um, das gravimetrisch oder maßanalytisch bestimmt werden kann. Durch Erhitzen von Glyzerin mit überschüssiger Jodwasserstoffsäure entsteht Isopropyljodid. Der dazu notwendige Apparat (Fig. 64) besteht aus einem Siedekolben *A* mit Steigrohr *B*, Waschapparat und Stopfen, dem Vorstoß und den beiden Vorlagen *C* und *D*. Das Siedekölbchen, das ungefähr 40 ccm faßt, trägt am Halse ein gebogenes, nahe der Insertionsstelle auf mindestens 1 mm lichte Weite verengtes Rohr *a* zum Einleiten von Kohlensäuregas. Der Waschapparat besteht aus dem die Fortsetzung des 10 cm langen und 7—8 mm weiten Steigrohres einschließenden Mantel mit seitlichem Ansatzrohr und dem bis knapp auf den Boden des Mantelgefäßes reichenden, dort etwas eingezogenen Rohrstopfen. Der Apparat muß so weit sein, daß er mit mindestens 5 ccm Waschflüssigkeit gefüllt werden kann. Das untere Ende des ersten Einleitungsrohres beim Vorstoß ist etwas erweitert, um Verstopfung durch angesetztes Jodsilber zu verhindern. Die erste Vorlage, ein Erlenmeyerkolben mit weitem Hals, faßt bis zu einer etwa in halber Höhe angebrachten Marke 45 ccm; die zweite Vorlage braucht nicht mehr als 5 ccm zu fassen. Die einzelnen Teile des Apparates müssen

sehr gut aufeinandergeschliffen sein und halten überdies durch Drahtspiralen aneinander, die an Glashörnchen des Apparates angebracht sind. Zur Bestimmung benötigt man Jodwasserstoff vom spezifischen Gewicht 1,9, ferner eine Auflösung von 40 g geschmolzenen Silbernitrats in 100 ccm Wasser, aufgefüllt auf einen Liter mit reinem Alkohol, die nach 24 Stunden zu filtrieren ist, ferner roten Phosphor, der mit Schwefelkohlenstoff, Äther, Alkohol und Wasser gut gewaschen ist. In dem Waschapparat wird 0,5 g davon, aufgeschwemmt in 5 ccm einer 10prozentigen Natriumarseniklösung eingebracht. Zur Bestimmung selbst werden 5 ccm der zu untersuchenden wässerigen Glyzerinlösung mit höchstens 5 % Glyzeringehalt mit 15 ccm Jodwasserstoffsäure versetzt und sofort darauf mit einem Splitter von gebranntem Ton in das Siedekölbchen gebracht. Nachdem in den Waschapparat die Phosphoremulsion, in die erste Vorlage 45 ccm, in die zweite 5 ccm der Silberlösung gebracht worden und die einzelnen Teile des Apparats sorgfältig dicht miteinander verbunden worden sind, wird durch das Seitenrohr des Siedekölbchens durch Wasser bzw. Natriumbikarbonat gewaschene Kohlensäure langsam durchgeleitet und das Kölbchen vorsichtig zum Sieden erhitzt. Der Siedering der Jodwasserstoffsäure soll sich bis etwa zur halben Höhe des Steigrohres erheben. Die Silberlösung in der ersten Vorlage wird sich bald trüben und ein kristallinisches, weißgelbes Gemisch von Jodsilber und Silbernitrat sich ausscheiden, die Flüssigkeit oberhalb des Niederschlages klärt sich, sobald die Fällung vollkommen beendigt ist. Nach 1—3 Stunden ist die Operation beendigt, der Niederschlag kommt samt Mutterlauge in ein zirka 600 ccm fassendes Becherglas. Man gießt mit dem Spülwasser auf etwa 450 ccm auf, setzt 10—15 Tropfen verdünnter Salpetersäure zu und läßt eine halbe Stunde auf einem kochenden Wasserbad stehen. Die Doppelverbindung von Silbernitrat und Silberjodid wird dabei zersetzt, der Niederschlag auf einen mit Asbest adjustierten Goochtiegel gebracht, mit Wasser und Alkohol gewaschen, bei 120—130 ° getrocknet und dann gewogen. Ein Molekül Jodsilber entspricht einem Molekül Glyzerin, daher ein Teil des gewogenen Jodsilbers 0,3915 Teilen Glyzerin.

VII. Stickstoffassimilation.

Daß keine Pflanze ohne Stickstoffnahrung auskommen kann, ergibt schon der Umstand, daß die Eiweißstoffe, welche ja zur Bildung des Protoplasmas notwendig sind, Stickstoff enthalten. Die Stickstoffquellen der Pflanzen sind einerseits das wässerige oder feste Substrat, in welchem sich der Stickstoff in chemisch gebundener Form vorfindet, anderseits der freie atmosphärische Stickstoff. Von anorganisch gebundenem Stickstoff vermag die höhere Pflanze außer Ammoniak nur Nitrate auszuwerten, während Nitrite oder Hyponitrite als Gifte wirken, ebensowenig können Oxyde des Stickstoffs als Nahrung dienen. In welcher Weise die Umwandlung der Nitrate in organische Komplexe erfolgt, wissen wir nicht, sicher ist nur, daß dabei eine Reduktion erfolgen muß, und es ist möglich, daß diese über Nitrit etwa so geht wie die Reduktion der Kohlensäure über Formaldehyd. Daß hierbei das Licht eine große Rolle spielt, scheint sicherzustehen, wenn auch die von Schimper und anderen vertretene Anschauung, die Stickstoffassimilation sei ein

lichtchemischer Prozeß, nicht durchaus stichhaltig ist, weil sie, wenn auch im Lichte bedeutend beschleunigt, sich doch auch im Dunkeln vollzieht. Freilich ist es in Analogie mit anderen Vorgängen nicht ausgeschlossen, daß im Dunkeln statt der Lichtenergie die aus chemischen Umsetzungen stammenden Energiewerte zur Stickstoffassimilation herangezogen werden. Sehr beachtenswert scheint die aus Versuchen extra vitam geschöpfte Hypothese von O. Baudisch, nach welcher das Reduktionsprodukt der Nitrate, welches im Lichte gebildet worden ist, mit Formaldehyd zu Formhydroxamsäure zusammentritt, wobei Kohlensäureassimilation mit Stickstoffassimilation genetisch verknüpft ist. Schon Berthelot sah, als er dunkle elektrische Entladung in einem Gasraum von Kohlensäure und Wasserdampf bei Gegenwart stickstoffhaltiger Substanzen einleitete, komplexe Stoffe entstehen, welche die Eiweißreaktionen gaben. Während, wie gesagt, niedrige Oxyde des Stickstoffs nicht verwertet werden können, wie ja überhaupt die höhere Pflanze in ihrer Stoffaufnahme auf die Verwertung nur der höchsten Oxyde (Kohlendioxyd, nicht aber Kohlenoxyd, Stickstoffpentoxyd (Nitrate), nicht aber Stickstofftrioxyd (Nitrite), Phosphorpentoxyd (Phosphate), nicht aber Phosphortrioxyd (Phosphite), Schwefeltrioxyd (Sulfate), nicht aber Schwefeldioxyd (Sulfite)) angepaßt ist, können die meisten Pflanzen statt der Nitrate auch mit Ammoniak oder Ammon- salzen (vorausgesetzt, daß diese nicht infolge ihrer physiologischen Alkaleszenz wie das Ammonkarbonat die Wurzeln schädigen, also nur Ammonsalze starker Säuren wie Ammonnitrat, Ammonchlorid usw.) vegetieren, ja manche Pflanzen gedeihen besser mit Ammoniak als mit Nitraten, so daß wir geradezu Nitratpflanzen (Buchweizen, Geranien, Tabak, Brennessel) einerseits, Ammoniakpflanzen (Mais, Gramineen überhaupt) unterscheiden können. Auf alle Fälle aber brauchen diese Pflanzen Stickstoff in gebundener Form, selbst organisch gebundener dtickstoff in Form von Aminosäuren oder Säureamiden kann dazu Sienen, und es ist durchaus wahrscheinlich, daß die Pflanzen auch in Naturböden wenigstens einen Teil ihres Stickstoffs der organischen Masse des Bodens direkt entnehmen, womit die Liebigsche Humustheorie doch wenigstens teilweise in ihre Rechte wieder eingesetzt zu sein scheint. Im Experiment ist es nicht leicht zu entscheiden, ob die organischen Stickstoffverbindungen vor ihrer Aufnahme durch die höhere Pflanze bis zu Ammoniak reduziert oder ob sie direkt aufgenommen werden, da solche Versuche bisher nicht mit steriler Methodik ausgeführt wurden und somit immer mit der Möglichkeit einer Intervention durch Mikroorganismen gerechnet werden muß. Daß organische Stickstoffverbindungen gleichzeitig als Stickstoff- wie als Kohlenstoffquelle dienen und höhere Pflanzen demnach mit Aminosäuren bei Ausschluß von Kohlensäure ihr Auslangen finden können, wie das Lefèvre behauptet hat, ist jedenfalls sehr unwahrscheinlich. Den molekularen Stickstoff der Luft vermögen die grünen Pflanzen für sich nicht auszunutzen, dies gelingt aber solchen, welche in Symbiose mit stickstoff-



Fig. 65. Wurzelknöllchen der Leguminosen.

bindenden Bakterien oder anderen stickstoffbindenden Organismen leben wie die Leguminosen oder jene Pflanzen, welche an ihren Wurzeln mit stickstoffbindenden Pilzen, der sogenannten Mykorrhiza, versehen sind. Während die übrigen Kulturpflanzen gebundenen Stickstoff im Substrat zum Gedeihen unbedingt brauchen, vermögen die Leguminosen auch in Quarzsand oder an Stickstoff verarmten Böden zu gedeihen und reichern sogar den Boden an Stickstoffverbindungen an. In der praktischen Landwirtschaft ist es schon eine alte Erfahrung, daß Leguminosen auch in sterilen Böden fortkommen und als Zwischenfrucht gebaut, einen durch Getreide u. dgl. erschöpften Boden wieder zum Anbau von nicht stickstoffsammelnden Pflanzen geeignet machen. Im Experiment bewirkt auch Nitratdarreichung bei Lupinen keine wesentlich bessere Entwicklung, als wenn die Stickstoffdüngung wegbleibt. Die Leguminosen sind dadurch ausgezeichnet, den atmosphärischen Stickstoff verwerten zu können und ihre Symbiose mit dem vermittelnden Bakterium ist durch die Ausbildung von eigenartigen, schon mit freiem Auge sichtbaren Anschwellungen an der Wurzel, den sogenannten Wurzelknöllchen (Fig. 65), zu konstatieren. Die Leguminosen kommen in sterilisierten Böden nicht fort, es sei denn, daß man mit einer Spur Ackererde den Boden nach dem Sterilisieren impft. Dabei ist zu beachten, daß die stickstoffbindenden Bakterien offenbar boden- und artspezifisch sind, denn die Bakterien von Wicke infizieren nicht Robinia pseudacacia usw., und die japanische Soja hispida gedieh in unserem Ackerboden erst, nachdem dieser mit etwas Erde aus dem japanischen Heimatlande geimpft worden war. Übrigens möge bei dieser Gelegenheit darauf aufmerksam gemacht werden, daß die Sterilisation eines Bodens durch Erhitzen für die Pflanze, welche nachher dahin versetzt ist, überhaupt nicht gleichgültig ist. Wie durch längere Kultur derselben Pflanzenart in einem Boden derselbe für Pflanzen derselben Art giftig wird, indem diese Pflanzenart in solchen Böden die Erscheinung der Bodenmüdigkeit zeigt, so entstehen auch beim Sterilisieren von Böden giftige Substanzen, welche dem Gedeihen der Pflanzen Eintrag tun. Nach C. Schulze[1]) scheinen in sterilisiertem Boden wachsende Pflanzen im wesentlichen unter der Einwirkung zweier entgegengesetzt wirkender Faktoren zu stehen. Je nach der allgemeinen Beschaffenheit des Bodens entstehen beim Sterilisieren mehr oder weniger schädlich wirkende Zersetzungsprodukte, welche die Versuchspflanze je nach dem Grade ihrer individuellen und ihrer durch die Art bedingten Empfindlichkeit mehr oder weniger stark beeinflussen. Dem entgegen wirkt der das Wachstum der Pflanzen befördernde Einfluß der Nährstoffaufschließung im Boden, insbesondere seines unlöslichen, nicht ohne weiteres zugänglichen Stickstoffvorrates. Je nachdem nun der eine oder andere dieser beiden Faktoren im einzelnen Falle überwiegt, kommt eine Erhöhung oder Verminderung der Ernte an Pflanzensubstanz zustande. Durch eine Kalkgabe läßt sich die Wirkung der Zersetzungsprodukte des Bodens stets ganz oder fast ganz aufheben. Die Bedeutung dieser Tatsachen für die Anstellung von Vegetationsversuchen in durch Hitze sterilisiertem Boden liegt auf der Hand und, da sich nicht alle Pflanzenarten gleich empfindlich verhalten, die Not-

[1]) C. Schulze, Einige Beobachtungen über die Einwirkung der Bodensterilisation auf die Entwicklung der Pflanzen, Landw. Vers.-Stat. 65, 137 (1907).

wendigkeit, bei solchen Versuchen Boden und Pflanze entsprechend auszuwählen, damit nicht die fast unvermeidlichen Störungen das Resultat des Versuches verschleiern. Am typischsten treten die schädigenden Einflüsse der Bodensterilisation beim Senf hervor, auch bei Hafer in Wiesenboden (Fig. 66) blieben die Pflanzen im sterilisierten Boden wesentlich gegen die in nicht sterilisiertem Boden zurück, überall tritt in mehr oder weniger hohem Maße Gelbwerden der Blätter ein. Haferpflanzen in Ackerboden (Fig. 67) zeigten dagegen keine Krankheitserscheinungen, aber auch hier blieben die Pflanzen zurück, wenn es da auch später infolge der Bodenaufschließung zu einer erheblichen Erhöhung der Produktion an Pflanzensubstanz kam; bei Hafer in Gartenboden (Fig. 68) zeigte sich sogar im sterilisierten Boden von

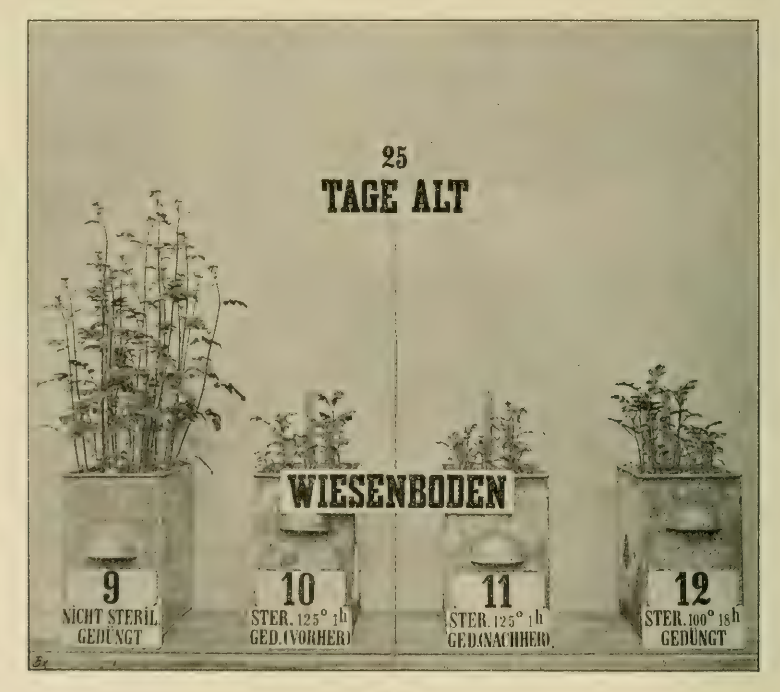


Fig. 66.

vornherein eine Förderung der Pflanzenentwicklung. In den untersuchten drei Bodenarten entstehen also beim Sterilisieren in ganz verschiedenem Maße Giftstoffe. Beim Senf, der, wie gesagt, gegen Bodensterilisation ganz besonders empfindlich ist, zeigt sich dieselbe Abstufung. Die Krankheitserscheinungen sind hier sehr intensiv und bestehen in Gelbwerden und Abwerfen der Blätter, aber hier verwischen oft individuelle Differenzen die typische Abstufung in den einzelnen Bodenarten. Viel weniger als Senf, aber noch immer sehr empfindlich zeigen sich Erbsen, noch weniger Buchweizen, und bei diesen Gräsern erscheint eine Giftwirkung überhaupt nicht. Bei den leidenden Pflanzen ist die Gesamternte immer kleiner, während die Stickstoffaufnahme relativ groß ist infolge Aufschließung der anorganischen Stickstoffquellen des Bodens durch Erhitzung. Will man eine üppige Entwicklung der Pflanzen hervor-

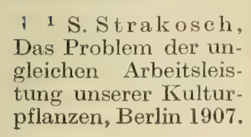
rufen, so muß man für Düngung des Bodens, für künstliche Bereicherung der natürlichen Nährstoffquellen sorgen, und zwar sind es außer Stickstoffverbindungen hauptsächlich die Verbindungen von Kali und Phosphor, welche dem Boden zugeführt werden. Auf die Methoden und Erfolge der Düngung kann hier nicht eingegangen werden, es muß diesbezüglich auf die sehr ausgedehnte landwirtschaftliche Literatur hingewiesen werden. Bemerkt sei nur, daß durch S. Strakosch[1]) die merkwürdigen Beziehungen zwischen Produktion von organischer Substanz durch Assimilation und Entnahme von mineralischen Bodennährstoffen, was dieser Autor mit dem jetzt in der wissenschaftlichen Terminologie bereits eingebürgerten Ausdruck „assimilatorischer Effekt" bezeichnet, aufgedeckt wurden, indem bei verschiedenen Pflanzenarten die Erntewerte bei gleichzeitigem Bedarf an Nährsalzen als sehr ungleich erkannt wurden. Über den Wert der verschiedenen Düngemittel im wissenschaftlichen Experiment führen K. und L. Linsbauer in ihrer „Vorschule der Pflanzenphysiologie" S. 108 folgenden instruktiven Versuch an:



Fig. 67.



Fig. 68.



[1]) S. Strakosch, Das Problem der ungleichen Arbeitsleistung unserer Kulturpflanzen, Berlin 1907.

Auf je 10 Liter Wasser lösen wir 10 g Doppelsuperphosphat (im wesentlichen ein Gemenge von $MgHPO_4$, $Ca(H_2PO_4)_2$ und 2 $CaSO_4$), 10 g KCl und 30 g $NaNO_3$. Damit begießen wir statt mit gewöhnlichem Wasser eine Topfpflanze, deren Erde vorher nicht ausgetrocknet sein darf, sondern eventuell früher mit gewöhnlichem Wasser begossen wird. Sollten auch die Blätter mit dieser Nährlösung besprengt worden sein — was zu vermeiden ist —, so werden sie mit Wasser abgespült. Pelargonien, Fuchsien, Veilchen, Reseden oder Chrysanthemen begießt man im Beginn der Entwicklung wöchentlich einmal, später zur Zeit des lebhaften Treibens sogar zweimal in der Woche (Primeln, Zyklamen, Knollenbegonien behandelt man mit der obigen Lösung, nachdem man sie vorher mit Wasser verdünnt hat, und zwar in der größten Wachstumsperiode nur etwa alle 8—10 Tage). Wir suchen nun drei möglichst gleichentwickelte Topfpflanzen derselben Art aus und begießen den ersten Topf nur mit gewöhnlichem Wasser, den zweiten mit der obigen Lösung, aus der wir den Chilesalpeter weggelassen haben, endlich den dritten Topf mit der vollständigen Lösung. Bei richtiger Kultur zeigt sich meist, daß nur bei gleichzeitiger Stickstoff-

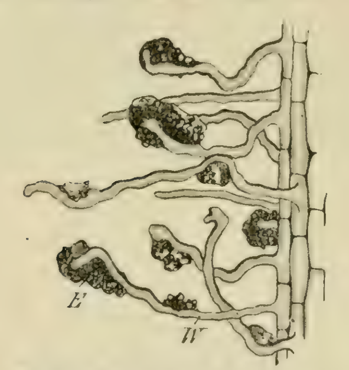


Fig. 69. Erdteilchen *E* umspinnende Wurzelhaare *W* (vergr.).



Fig. 70. Relief des Wurzelsystems, in eine Marmorplatte eingeätzt.

darbietung die Kaliphosphatdüngung einen, dann allerdings sehr deutlichen Erfolg hat. Bekanntlich vermögen die Pflanzen selbst schwerlösliche Bodenbestandteile löslich zu machen, „aufzuschließen“, indem ihre Wurzelhaare die Bodenpartikelchen innig umspinnen und durchdringen (Fig. 69), worauf das Löslichmachen durch die Wurzelausscheidungen beruht. Läßt man z. B. eine Pflanze ihr Wurzelsystem in gut befeuchteter Erde auf einer glattpolierten Marmorplatte ausbreiten, so zeigt sich nach einigen Wochen das ganze Wurzelsystem mit allen feinsten Details in der korrodierten Platte eingeätzt (Fig. 70).

Bei vielen Pflanzen können wir den Stickstoff in Ionenform nicht nur erst in der Asche nachweisen, sondern schon in der frischen lebenden Pflanze sind Nitrate nachweisbar, wenn man den Saft nitratreicher Pflanzen, wie Zuckerrübe, Sonnenblumen, Kartoffel, Brennessel, Gänsefuß, Fuchsschwanz (welcher letztere 15 % Salpeter in der Trockensubstanz enthält), mit Diphenylamin und konzentrierter Schwefelsäure zusammenbringt. Nitrate liefern mit Diphenylamin Blaufärbung, mit Brucin und Schwefelsäure Rotfärbung. Dagegen zeigen grüne Blätter von Pelargonium normalerweise keinen oder nur sehr geringen Nitratgehalt;

erst nach 4—6tägigem Stehen im Dunkeln ergibt sich eine Anreicherung an Nitrat entsprechend der Tatsache, daß das Licht die Eiweißbildung begünstigt. Daß sie auch in Relation mit der Kohlensäureassimilation steht, wird durch den Umstand wahrscheinlich, daß panaschierte Blätter dieser Topfpflanzen ihren im Dunkeln angehäuften Nitratgehalt im Lichte nur aus den grünen Partien verlieren, nicht aber aus den weißen. Daß Eiweißbildung nur bei gleichzeitiger Anwesenheit von Kohlenhydraten vor sich geht, ist eine schon längere Zeit bekannte Tatsache, so daß sich bei Zuführung von Kohlenhydraten auch im Dunkeln rasch Eiweiß bildet. Sehr reich an Nitraten fand R. Klein[1]) auch den Guttationstropfen von Zea Mays und Caladium antiquorum. Zum Nachweis von Nitriten geht derselbe Autor in der Weise vor, daß er Azofarbstoffe zur Identifikation heranzieht, da die Reaktion mit Jodkalistärkekleister nicht auf Nitrite allein hinweist. Übrigens kann hinzugefügt werden, daß auch die Diphenylaminprobe nicht für Nitrate allein charakteristisch ist, sondern auch von Nitriten und überhaupt vielen oxydierenden Stoffen geliefert wird. Hier leistet eine 10prozentige Lösung von Nitron (Diphenylanilodihydrotriazol $C_{20}H_{16}N_4$) in 5prozentiger Essigsäure viel bessere Dienste, da dieses Reagens ein sehr schwer lösliches Nitrat liefert. Eine sehr empfindliche Reaktion auf Nitrite, selbst in äußerst verdünnten Lösungen, liefert Metaphenylendiamin, nämlich eine in überschüssiger, verdünnter Schwefelsäure sich bildende gelbe bis braune Färbung. Spuren salpetrigsaurer Salze werden nach Grieß nachgewiesen, indem man die zu untersuchende Flüssigkeit mit einer wässerigen Sulfanilsäurelösung versetzt und einige Tropfen Schwefelsäure, sowie wässerige α-Naphthylaminlösung hinzufügt. Noch bei überaus starker Verdünnung tritt deutliche Rosafärbung ein, die erhalten bleibt; nitritreiche Lösungen geben intensive Rotfärbung, die, unter gleichzeitiger Bildung eines Niederschlages, bald in Gelb übergeht. Bei der Prüfung auf Nitrite mit so empfindlichen Reaktionen — das Vorkommen von Nitriten in lebenden Pflanzen ist noch strittig — muß man übrigens auch darauf Rücksicht nehmen, daß die Luft eines Arbeitsraumes, in dem elektrische Bogenlampen, Quarzglasquecksilberlampen oder Gasflammen brennen, fast stets Nitrit enthält, und daß die Säfte, wenn sie längere Zeit aufbewahrt werden sollen, sehr sorgfältig vor Infektion zu schützen sind. Klein hat noch folgende schöne Reaktionen für Nitrite angegeben: 1. Man versetzt die zu prüfende Lösung mit wässeriger Sulfanilsäure und 2—3 Tropfen konzentrierter Salzsäure. Auf Zusatz von alkoholischer Diphenylaminlösung färbt sich die Flüssigkeit leuchtend rot. Noch schöner tritt die Reaktion ein, wenn man mit der Diphenylaminlösung sorgfältig überschichtet. Es bildet sich an der Berührungsstelle ein roter Ring, der auch bei sehr starker Verdünnung gut zu sehen ist. 2. Nitrite geben mit alkoholischer α-Naphthylaminlösung und etwas verdünnter Salzsäure eine tiefdunkle Violettfärbung. Bei längerem Stehen von nicht zu stark verdünnten Lösungen fällt ein Niederschlag aus.

Zu methodischen Zwecken können wir die stickstoffhaltigen Bestandteile der Pflanzen einteilen in Proteine, Peptone und Albumosen, Aminosäuren und anorganische Stickstoffverbindungen

---

[1]) R. Klein, Über Nachweis und Vorkommen von Nitraten und Nitriten in Pflanzen, Beih. z. bot. Zentralbl. 30, 141 (1913).

(Nitrate. Nitrite. Ammonsalze). Unter den Proteinen sind die einen in Wasser unlöslich, dagegen öslich in 1—2 prozentigen Alkalien; die in Wasser löslichen sind durch Essigsäure, Kupferazetat und essigsaures Blei fällbar, bisweilen, aber nicht immer, durch überschüssigen Alkohol. Osborne teilt die Samenproteine ein 1. in Globuline, welche in Wasser unlöslich, aber in neutralen Salzlösungen, z. B. Ammonsulfat löslich sind. 2. Prolamine, welche durch 50—80 prozentigen Alkohol extrahiert werden können und bei der Zerlegung durch Säuren viel Prolin und Amidstickstoff liefern. 3. Gluteline, unlöslich in allen neutralen Lösungsmitteln, extrahierbar nur mit verdünnten Säuren oder Alkalien. 4. Albumine, wasserlöslich, in der Hitze koagulierbar, bei Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbar. 5. Proteosen. Die Peptone und Albumosen sind in Wasser löslich, aber nicht fällbar durch eines der vorgenannten Reagenzien; sie geben mit der Biuretreaktion eine charakteristische rötliche Färbung, sind vollkommen fällbar aus neutraler Lösung durch alkoholische Sublimatlösung und aus schwach saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure, sie diffundieren langsam durch tierische Membran.

Zur Prüfung auf die *wasserunlöslichen*, in verdünnten Alkalien löslichen *Proteine* wird die alkalische Lösung sorgfältig mit verdünnter Säure neutralisiert, wobei sich ein Niederschlag bildet, der im Überschuß der Säure löslich ist. Dieser Niederschlag wird abfiltriert, gewaschen und durch die gewöhnlichen Eiweißreagenzien geprüft. Zur Prüfung auf die wasserlöslichen Proteide wird die Lösung nach Zugabe einiger Tropfen Essigsäure und unter Zufügung von 90 prozentigem Alkohol gekocht, der eventuell ausfallende Niederschlag filtriert, gewaschen und auf Eiweiß geprüft. Ob ein Niederschlag entstanden ist oder nicht, fügt man zu einer frischen Probe der Lösung je 1. gelbes Blutlaugensalz und einen Tropfen Essigsäure, 2. eine wässerige Lösung von Trichloressigsäure. Diese beiden Reagenzien liefern mit Proteiden Niederschläge, und diese entstehen häufig, wenn die Lösung auch beim Kochen oder beim Versetzen mit Alkohol keine Reaktion gibt. Bei Anwesenheit von Proteiden wird eine wässerige Lösung von Kupferazetat so lange zugefügt, als noch ein Niederschlag entsteht, und filtriert. Im Filtrat wird das Kupfer mit Schwefelwasserstoff ausgefällt, der Überschuß von Schwefelwasserstoff durch Erwärmen ausgetrieben und auf Peptone und Albumosen folgendermaßen geprüft: 1. Biuretreaktion (gleiche Volumina starker Natronlauge und Zufügen von 1—2 Tropfen verdünnter Kupfervitriollösung, Rotfärbung). 2. Mit Natriumphosphat und verdünnter Schwefelsäure geben Peptone und Albumosen eine weiße Fällung. 3. Gesättigte alkoholische Sublimatlösung gibt eine im Wasser unlösliche weiße Fällung. Wenn Peptone und Albumosen zugegen sind, werden sie durch Zugabe der Sublimatlösung vollkommen ausgefällt, filtriert, das Filtrat durch Abdampfen von Alkohol und durch Schwefelwasserstoff von Quecksilber, durch Erhitzen von überschüssigem Schwefelwasserstoff befreit. Die so behandelte Lösung wird sorgfältig mit verdünnter Natronlauge neutralisiert und auf Aminosäuren geprüft 1. durch Hinzusetzen von frisch gefälltem und gut gewaschenem Kupferhydroxyd. Aminosäuren geben eine tiefblaue Lösung, nach sorgfältigem Verdampfen und Stehenlassen über Schwefelsäure im luftverdünnten Raume erscheinen charakteristische Kristalle der Aminosäure-Kupferverbindung. 2. Eine abgekühlte Mischung von

Natriumnitrit und verdünnter Schwefelsäure wird zugetropft, die Aminosäuren entwickeln Stickstoff. 3. Beim Kochen mit verdünnten Säuren liefern die Aminosäuren Ammoniak, welches entweder durch Austreiben mit Magnesia oder Kalk und Nachweis mit Lackmuspapier oder einen in Salzsäure getauchten Glasstab oder mit Neßlerschem Reagens nachgewiesen wird.

Von *Fällungsreaktionen der Proteine* sind anzuführen: 1. Die Fällung durch Alkohol. Alle Proteine werden gefällt, die fällende Alkoholkonzentration schwankt mit der Natur des Proteins, Eiweißsalze sind bisweilen leichter alkohollöslich, die höheren Glieder der Alkoholreihe besitzen ein stärkeres Fällungsvermögen; aromatische Alkohole fällen in geringerer, lösen in starker Konzentration. Wie Alkohol wirken auch Azeton und Chloroform. 2. Koagulation durch Hitze: die meisten Proteine werden durch Erwärmen irreversibel denaturiert, die dazu notwendige Temperatur steht in Abhängigkeit von der Reaktion der Lösung, der Eiweißkonzentration, dem Salzgehalt, der Geschwindigkeit des Erwärmens. 3. Fällung durch die Salze von Eisen, Kupfer, Quecksilber, Zink, deren Überschuß bisweilen lösend wirkt. 4. Fällung durch die Alkaloidreagenzien Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdansäure, Gerbsäure, Ferrozyanwasserstoffsäure, Trichloressigsäure, Pikrinsäure.

Von den *Farbenreaktionen* sind folgende zu nennen: 1. Biuretreaktion. Zusatz einiger Tropfen sehr stark verdünnter Kupfervitriollösung zu einer stark alkalischen Eiweißlösung erzeugt bei Proteinen Blauviolettfärbung, bei Albumosen und Peptonen, wie schon erwähnt, rote Färbung (ebenso bei Vitellinen). Nickelsalze statt der Kupfersalze geben orangerote Verbindungen. Überschuß des Reagens und zu starkes Erhitzen sind zu vermeiden. 2. Xanthoproteinreaktion: Zusatz von konzentrierter Salpetersäure zu wässerigen Eiweißlösungen oder zu festem Eiweiß gibt in der Kälte, meist aber erst beim Erwärmen Gelbfärbung, die auf Zusatz von Alkali rotbraun, auf Zusatz von Ammoniak orange wird. Sie ist an die Anwesenheit von aromatischen Radikalen gebunden, mit denen sie Nitroderivate erzeugt. 3. Millonsche Reaktion: Ein Teil metallischen Quecksilbers wird in zwei Teilen konzentrierter HNO_3, spezifisches Gewicht 1,42, in der Kälte gelöst, dann zum Sieden erhitzt, nach erfolgter Lösung mit dem doppelten Volumen Wasser verdünnt und hierauf filtriert. Wenige Tropfen dieses Reagens zu einer Eiweißlösung bilden einen Niederschlag, der sich ebenso wie die überstehende Lösung beim Erwärmen rot färbt. Gebunden an die Tyrosin- oder Tryptophangruppe der Proteine. 4. Schwefelbleireaktion: Proteinlösungen mit Bleisalzen in alkalischer Lösung gekocht liefern schwarzes Bleisulfid. Gebunden an die Cysteingruppe im Eiweiß. 5. Reaktion von Molisch: Zusatz einiger Tropfen einer alkoholischen Lösung von α-Naphthol (15 bis 20 %) und darauf Unterschichten mit 1—2 Volumen konzentrierter Schwefelsäure bewirkt rubinrote bis violette Färbung, durch Äther, Alkohol oder Sodalösung Farbenumschlag in Gelb. Verwendung von Thymol statt α-Naphthol gibt karminrote Färbung, die durch Wasserzusatz einen grünlichen bis gelbbraunen Niederschlag ausfallen läßt. Gebunden an eine Kohlehydratgruppe, die durch die Säure Alkohol abspaltet. 6. Reaktion von Adamkiewicz: Trockenes, vorher mit Äther entfettetes Eiweiß in Eisessig gelöst und mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, gibt an der Berührungsfläche rote, grüne

und violette Färbungen. Nach Hopkins und Cole fügt man eine Spur Glyoxylsäure zu der Proteinlösung, fügt nach dem Umschütteln konzentrierte Schwefelsäure hinzu, worauf blauviolette Färbung auftritt. 7. Mit Alkohol und Äther entfettete Proteine geben nach Liebermann, mit rauchender Salpetersäure gekocht, tiefe Blaufärbung. Gebunden an das durch die Salzsäure abgespaltene Tryptophan und die aus dem Äther stammende Glyoxylsäure. 8. Nach Neubauer und Rohde geben infolge Anwesenheit von Tryptophan Eiweißlösungen mit 5—10 Tropfen 5prozentigen Dimethylaminobenzaldehyds in 10prozentiger H_2SO_4 und Zusatz von konzentrierter H_2SO_4 unter Umschütteln rotviolette Färbung mit Übergang in Dunkelviolett.

Zur *quantitativen Bestimmung werden die Proteine* naß verbrannt und das gebildete Ammoniak überdestilliert, in Schwefelsäure von bestimmtem Gehalte aufgefangen und der Überschuß der Säure durch gestellte Natronlauge zurücktitriert. Auf diese Weise erhält man natürlich den Gesamtstickstoff; durch besondere, später zu schildernde Bestimmungen stellt man den Amid- und Ammoniakstickstoff fest, wodurch eine Aufteilung der verschiedenen Verbindungsformen des Stickstoffs möglich wird. Zur Ausführung der *Gesamtstickstoffermittlung wird heute allgemein die Kjeldahlsche Methode* verwendet. Zur Kjeldahl-Bestimmung nimmt man am besten die frischen, grob zerkleinerten Pflanzenteile oder das lufttrockene Pflanzenmaterial. Will man mit Extrakten arbeiten, so ist es zweckmäßig, die staubtrockenen Pflanzenteile in einer Mühle fein zu zermahlen, wobei man die gröberen Anteile durch ein feines Sieb zurückhält und von neuem die Mühle passieren läßt. Fettreiche Samen lassen sich auch nach dem Trocknen schwer pulvern, man entfettet sie daher zunächst mit Äther oder Petroläther. Frische Pflanzen oder Pflanzenteile werden mit Hilfe eines Mörsers oder einer Reibschale, am leichtesten unter Zufügung von Quarzsand oder Glasstaub zerrieben (dort, wo es darauf ankommt, die native Reaktion des Saftes festzustellen, darf man nicht mit Glaspulver arbeiten, welches beträchtliche Mengen Alkali an den Saft abgibt). Stellt man Extrakte aus den frischen oder getrockneten Pflanzen her, so ist die Substanz mit Wasser auf 50 ° zu erwärmen, bei stärkemehlfreien oder stärkemehlarmen Substanzen kann man die Erwärmung höher treiben; längeres Kochen ist aber jedenfalls zu vermeiden, da leichter zersetzliche Substanzen dadurch schon Veränderungen erleiden können. Die Löslichkeitsverhältnisse der in Pflanzenorganen gemischt vorliegenden Substanzen pflegen übrigens sowohl gegenüber Wasser als auch gegen siedenden Alkohol ganz andere zu sein als die Löslichkeitsverhältnisse der reinen Stoffe, indem in der Pflanzenzelle die einzelnen Stoffe die Löslichkeit der anderen befördern, so daß man wohl annehmen kann, daß unter diesen Verhältnissen schon bei 50 ° in Wasser die meisten Substanzen sich lösen. Zur Abtrennung des extrahierten Rückstandes vom Extrakt bedient man sich zunächst des Absaugens an der Nutsche und dann des Abpressens mit einer starken Hebelpresse; ich bediene mich einer starken Differentialhebelpresse, an welcher ich durch entsprechendes Drehen ein völliges Trockenpressen erziele, während an der Nutsche mindestens die Hälfte der Flüssigkeit im Rückstande verbleibt. Das Trocknen der frischen Pflanzenteile geschieht am besten bei einer Temperatur von 60—70 °, weil bei höheren Temperaturen schon weitgehende Zersetzungsvorgänge statthaben können, während bei niedrigerer Er-

wärmung, etwa bei 40 ⁰ wohl diese Gefahr noch mehr vermindert ist als bei 60 ⁰, aber anderseits wieder hier die Möglichkeit vorliegt, daß bei der länger dauernden Trocknung enzymatische, eventuell sogar bakterielle Zersetzungen Platz greifen. Eine gute Trocknungsmethode besteht auch im Einlegen in 95 prozentigen oder absoluten Alkohol durch mehrere Wochen und nachheriges Trocknen des vom Alkohol abfiltrierten festen Materials im Vakuumexsikkator. Die Lebenstätigkeit der Pflanzen erlischt da sehr bald, und auch die enzymatische Tätigkeit ist meistens unterbunden; natürlich muß man aber dann nicht nur das getrocknete Pflanzenmaterial auf seine Bestandteile untersuchen, sondern berücksichtigen, daß auch in den Alkohol ziemlich viel davon übergegangen ist, zumal dieser durch das Gewebewasser verdünnt worden ist. Eine andere Methode zum Trocknen ist das Vermischen des feinzerhackten Materials mit gebranntem Gips oder entwässertem Natriumsulfat, zumal für die nachfolgende Extraktion mit Alkohol oder Äther.

Zur Kjeldahlschen *Bestimmung von Gesamtstickstoff* bringt man 5—10 g, von Flüssigkeiten 10—20 ccm in einen langhalsigen Rundkolben von Jenenser Glas, der, für Stickstoffbestimmungen besonders gearbeitet, im Handel zu haben ist; der Kolben soll 750—800 ccm fassen. Dann fügt man 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 0,2—0,5 g Kupfervitriol, fest oder in Lösung, hinzu und erwärmt den Kolben in schiefer (Fig. 71) Lage unter einem gut ziehenden Abzug am Drahtnetz; die Erwärmung erfolgt zuerst mit kleiner, dann mit größerer Flamme, bis weiße Schwefelsäuredämpfe entweichen, worauf man die Erhitzung für kurze Zeit unterbricht, um noch zirka 5 g Kaliumsulfat in die Flüssigkeit zu geben. Dann erhitzt man wieder und erhält so lange in heftigem Sieden, bis die Flüssigkeit schwach blaugrün geworden ist und keine dunklen Teile mehr enthält. Die Zeit, welche dazu notwendig ist, variiert je nach der Art und Menge der analysierten Substanz und kann von einer Viertelstunde bis zu 20 Stunden dauern. Mitunter tritt bei der Zersetzung heftiges Schäumen ein, und schon aus diesem Grunde sollte das Erhitzen anfangs mit kleiner Flamme vorgenommen werden, ferner setzen sich bisweilen im oberen Teile des langhalsigen Kolbens halbverkohlte Partikeln an, die hartnäckig an der Kolbenwandung haften, durch Umschütteln nicht zu lösen sind und auch der Verbrennung widerstehen. Dann muß man den Kolben erkalten lassen, die anhängenden Massen mit Wasser aus der Spritzflasche herunterspülen und von neuem erhitzen. Die Schwefelsäure, welche bei so langer Erhitzung ebenfalls verdampft, muß öfters erneuert oder statt ihrer Schwefelsäure verwendet werden, die mit Phosphorsäureanhydrid (200 g P_2O_5 auf 1000 ccm konzentrierter Schwefelsäure) versetzt ist. Als Katalysator besonders wirksam ist auch Quecksilber oder Quecksilberoxyd. Zu der mit 10 bis 20 ccm Schwefelsäure versetzten Substanz wird ein Tropfen metallisches Quecksilber oder 0,3—0,4 g vorher gut verriebenes rotes Präzipitat gesetzt. Statt des letzteren verwendet man besser eine Lösung von Merkuriazetat. Wendet man Quecksilber an, so ist es zweckmäßig,

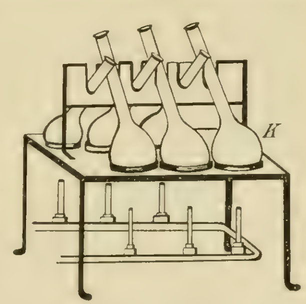


Fig. 71. Kjeldahlkolben, fertig zum Erhitzen.

die Bestimmung in einem zu Ende zu führen, da sich sonst feste, am Glas haftende Niederschläge ansetzen, die auch durch Kochen mit Wasser nur sehr schwer aufzulösen sind. Ferner bilden sich Merkuroammoniumverbindungen, welche beim nachherigen Abdestillieren des Ammoniaks durch Natronlauge nicht zerlegt werden; man erreicht ihre Zerstörung am besten durch Zusatz von 1 g für 0,4 g HgO oder 2,7 g auf 1 g Hg an gepulvertem Natriumthiosulfat, das man mit der Lauge der abzudestillierenden Flüssigkeit zusetzt, oder man hält eine zirka 20 prozentige Lösung dieses Salzes vorrätig und mischt 40 ccm der Natronlauge vom spezifischen Gewicht 1,34 mit 10 ccm der Lösung. Auf alle Fälle versäume man nicht, noch 1—2 Stunden weiter zu erhitzen, auch nachdem die Lösung im Kjeldahl-Kolben vollkommen klar geworden ist. Bedeutend schneller erfolgt das Aufschließen der Substanz, wenn man statt eines Katalysators deren mehrere benutzt, also z. B. Quecksilber oder ein Quecksilbersalz zugleich mit Kupfersulfat oder Kaliumsulfat, welches letztere übrigens in jedem Falle zur Anwendung kommt, da es eigentlich nicht als Katalysator wirkt, sondern dadurch, daß es die Siedetemperatur der Schwefelsäure erhöht und damit die Möglichkeit bietet, die Reaktionstemperatur und damit die Reaktionsgeschwindigkeit zu erhöhen. Für 1 g Eiweiß trat nach der Zusammenstellung von Wedekind und Arnold bei Anwendung verschiedener Katalysatoren die vollständige Entfärbung bzw. Blaufärbung des Gemisches nach folgenden Zeiten ein: mit 40 g H_2SO_4 + 20 g K_2SO_4 in 50 Minuten (nach Gunning), mit 40 g H_2SO_4 + 1 g $CuSO_4$ + 1 g HgO in 40 Minuten (nach Arnold), mit 40 g H_2SO_4 + 20 g K_2SO_4 + 1 g HgO + 1 g $CuSO_4$ in 18 Minuten (nach Gunning-Arnold). Tritt beim Verkohlen starkes Schäumen ein, so empfiehlt es sich, zuerst nur mit Schwefelsäure und dem vierten Teil ihres Gewichtes an Kalisulfat zu kochen und erst nach 10—15 Minuten Kochdauer den Rest des Kalisulfates hinzuzufügen. Das Klarwerden der Lösung ist, wie gesagt, niemals ein Zeichen, daß der gesamte Stickstoff schon in Ammoniak übergeführt ist, denn die Verkohlung und Verbrennung des Kohlenstoffs kann bei kohlenstoffarmen Substanzen vollendet sein, bevor noch die Stickstoffkomplexe zerstört sind; bei solchen Substanzen empfiehlt es sich, um ein äußeres Zeichen der Beendigung des Prozesses zu haben, irgendeine stark verkohlende, stickstofffreie Substanz, z. B. Rohrzucker der Analysenmasse von vornherein zuzusetzen; am sichersten aber ist es, das Erhitzen auch nach eingetretener Farblosigkeit noch einige Zeit fortzusetzen. Bei schäumenden Flüssigkeiten empfiehlt es sich, als Siedeverzug ein Stückchen Paraffin in den Kolben zu werfen. Öfteres Schütteln des erhitzten Kolbens ist in manchen Fällen zweckmäßig, ferner bei sehr schwer verbrennlichen Substanzen der Zusatz eines Oxydationsmittels: der Kolben wird dann vom Feuer weggenommen, auf einem Stück Filtrierpapier auf eine Porzellanschale gestellt und sogleich der Inhalt mit trockenem, grobgepulvertem Kaliumpermanganat oxydiert, welches mit einem Spatel in kleineren Portionen in den Kolben gestreut wird, bis die Masse nach wiederholtem Umschütteln von den ausgeschiedenen Manganverbindungen eine dunkelgrüne Farbe angenommen hat. Nach Stehenlassen, bis Abkühlung eingetretetn ist, wird destilliertes Wasser zugesetzt und neuerdings abkühlen gelassen, bevor die Destillation mit Natronlauge vorgenommen wird. Der Zusatz von Permanganat ist überhaupt bei schwer aufschließbaren Substanzen kaum zu umgehen, er darf aber nicht bei stark halogen-

haltigen Substanzen oder bei Vorhandensein von viel Chloriden vorgenommen werden, da durch das freiwerdende Chlor ein erheblicher Verlust an Ammoniak eintreten kann. Um ein Verspritzen oder reichliches Entweichen der Schwefelsäure zu vermeiden, bedient man sich einer langgestielten Kugel, welche in den Hals des schiefliegenden Kolbens eingelegt wird. Beim Entweichen der Dämpfe wird die Kugel fortdauernd etwas gelüftet und sinkt durch den dabei geschaffenen Spannungsausgleich wieder zurück, so daß während der Operation ein rhythmisches Klappern zu hören ist; die Säure kondensiert sich fortdauernd an dem langen Kugelstiel und fließt fortwährend in den Kolben zurück. Verfügt man nicht über einen guten Abzug, der für die Entfernung der gebildeten Schwefeldioxyddämpfe sorgt, so bedient man sich zweckmäßig des Vogtherrschen Apparates. Der Jenenser Kolben trägt hier eine luftdicht eingeschliffene Glocke, die in eine Destillationsröhre ausläuft. Diese ist nochmals senkrecht nach abwärts gebogen und mündet in ein kreisförmig erweitertes Absorptionsrohr, dessen unteres offenes Ende in die Natronlauge enthaltende Vorlage eintaucht. Das Schwefeldioxyd wird von der Lauge zu Natriumsulfit gelöst, und in den Arbeitsraum gelangt fast nichts davon. Man kann statt dessen auch den Apparat benutzen, in dem später das Ammoniak destilliert werden soll, nur daß man eben statt Schwefelsäure Natronlauge vorlegt. Nach Ablauf der Kochzeit, wenn man also annehmen kann, daß die gesamten Stickstoffverbindungen zerlegt worden sind, läßt man erkalten, fügt vorsichtig 250—300 ccm destilliertes Wasser hinzu, läßt wieder erkalten (nicht etwa unter der Wasserleitung abkühlen, weil die Jenenser Rundkolben, so widerstandsfähig sie gegen Erhitzung sind, bei jähem Temperaturwechsel leicht springen), gibt dann eine ziemliche Menge (etwa 15 g) feingepulverten Talk hinzu und reinigt den oberen Teil des Kolbenhalses bis auf etwa 8 cm sorgfältig von hängengebliebenem Pulver. Bevor man nun Natronlauge zuschüttet, bereitet man alles für die nachfolgende Destillation vor; man füllt in ein Erlenmeyerkölbchen mit der Pipette 50 ccm $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure und stellt das Kölbchen so als Vorlage an den Destillationsapparat, daß das aus dem Kühlgefäß herausragende Glasrohr in die vorgelegte Schwefelsäure eintaucht (Fig. 72). Dort, wo das Glasrohr aus dem Destillierapparat hervorkommt, hat es zur vollständigen Kondensation der Dämpfe eine Glaskugel angeblasen. Die Flüssigkeit im Kjeldahl-Kolben enthält nun die gesamte Stickstoffmenge der zerstörten organischen Substanz als Ammoniak an Schwefelsäure gebunden, also in Form von Ammonsulfat, aus dem durch Lauge das Ammoniak freigemacht werden muß. Zu diesem Zwecke fügt man in die Flüssigkeit ohne Umschütteln 33 prozentige Natronlauge, die man mittels eines Trichters, so daß die Kolbenhalswand nicht

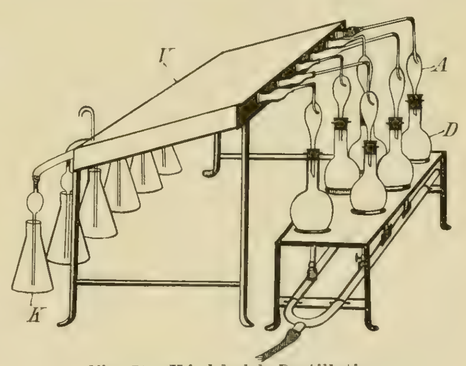


Fig. 72. Kjeldahl-Destillation.
A = Destillieraufsatz; D = Destillierkolben; V = Kühlvorrichtung; K = Kolben mit vorgelegter Schwefelsäure.

benetzt wird, in dünnem Strahle einfließen läßt. Da die schwere Natronlauge zu Boden sinkt und die Neutralitätsgrenze mittels eines Indikatorpapiers nicht bestimmt werden kann, da man nicht umschütteln soll, bestimmt man zweckmäßig nach Maßgabe der zur Zerstörung der organischen Substanz verwendeten Schwefelsäure die Menge der Natronlauge, welche zu deren Neutralisierung notwendig ist; hat man 10 ccm Schwefelsäure angewendet, so genügen 40—50 ccm der 33 prozentigen Lauge. Im Notfalle kann man ein Lackmuspapier in den Kjeldahlkolben einwerfen und unmittelbar, bevor man mit dem Destillierkühler verbindet, umschütteln, wobei allerdings, namentlich wenn man Quecksilber als Katalysator verwendet hat, infolge Ausfallens der dunkelgefärbten Merkuroammoniumverbindungen das Lackmuspapier schwer zu sehen ist. Man verbindet jedenfalls sofort nach Zufließenlassen der Lauge den Kolben mit dem Kolbenaufsatze, der aus einem gebogenen Kühlrohr mit angeschmolzener Kugel und Vorrichtung besteht, die das Überspritzen verhindert; dieser Kolbenaufsatz ist zweckmäßig dauernd mit dem durch den Kühlapparat ziehenden Destillationsrohr durch Kautschukschlauch Glas an Glas verbunden, so daß der Kautschukstöpsel des Destillationsaufsatzes einfach nur fest im Kjeldahlkolben befestigt zu werden braucht. Da der Stöpsel nicht luftdicht sitzt, wenn der Kolbenhals mit Natronlauge benetzt ist und beim Destillieren durch die Dämpfe leicht herausgeschoben wird, muß dafür gesorgt sein, daß der Kolbenhals bis zur Destillation vollkommen trocken bleibt. Nachdem der Kolben mit dem Destillationsrohr und damit mit der vorgelegten Schwefelsäure verbunden ist, schüttelt man um und zündet sofort den Brenner unter dem Kolben an; die Destillation beginnt sofort, sobald die Flüssigkeit warm geworden ist, doch ist es zweckmäßig, zunächst mit kleinerer und erst später mit voller Flamme zu erhitzen, weil mitunter bei zuviel Merkuroammoniumverbindung oder zuviel Talk ein lästiges Stoßen anhebt. Bei ordnungsgemäßer Arbeit ist das Ammoniak überdestilliert, bevor das Stoßen beginnt, und eine kräftige Erschütterung des Destillierkolbens durch Stoßen zeigt in der Regel die Beendigung der Reaktion an, und man kann darauf rechnen, daß nach halbstündiger Destillation das gesamte Ammoniak übergetrieben ist. Nach einer halben Stunde löst man daher probeweise die Verbindung zwischen Glasrohr und Kühler und fängt einen Tropfen des Destillates auf rotem Lackmuspapier auf und stellt, wenn es noch blau gefärbt werden sollte, die Verbindung wieder her und destilliert weiter. Wenn endlich eine solche Prüfung die Abwesenheit von Ammoniak im übergehenden Destillat anzeigt, löst man die Verbindung von Glasrohr und Kühler, die durch einen einfachen, gut sitzenden Kautschukschlauch hergestellt ist, und spritzt die am Glasrohre sitzenden Flüssigkeitstropfen außen und innen mit der Spritzflasche gründlich ab, fügt einige Tropfen Methylorange hinzu und titriert die überschüssige Schwefelsäure mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge zurück. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Kalilauge werden von 50, respektive wenn eine größere Menge Schwefelsäure vorgelegt werden mußte, was man an der Färbung des Indikators erkennt, den man zu diesem Zweck von vornherein der vorzulegenden Schwefelsäure zufügen kann, von dieser größeren Menge abgezogen und mit dem Faktor 1,401 multipliziert, was die Menge des in der analysierten Substanz vorhandenen Gesamtstickstoffs angibt. Eine Kühlung durch

Wasser während des Destillierens ist nicht unbedingt erforderlich, ja, die vorgelegte Säure kann sogar zum Sieden gelangen, ohne daß ein Verlust an Ammoniak zu befürchten ist, jedoch ist immerhin eine schwache Kühlung mit Wasser doch zweckmäßig, weil so Verluste vermieden werden, die eintreten könnten, wenn die Menge der vorgelegten Säure nicht genügte. Die Titration kann auch mit der warmen Flüssigkeit ausgeführt werden; es ist sogar vorteilhaft, gegen Schluß der Destillation, die man 15 Minuten unter Wasserkühlung hat vor sich gehen lassen, das Wasser aus dem Kühlgefäß ablaufen und das Kühlrohr heiß werden zu lassen; dann werden die letzten Spuren Ammoniak in wenigen Minuten übergetrieben. Ferner tut man gut, durch öfteres Schütteln des Erlenmeyerkolbens mit der Schwefelsäure dafür zu sorgen, daß stets frische unverbrauchte Säure das Ammoniak empfängt. Nach beendeter Destillation wird zuerst die Verbindung der in die Schwefelsäure eintauchenden Glasröhre mit dem Kühler gelöst und dann erst die Flamme abgedreht, weil sonst durch Druckverminderung im Destillierkolben leicht ein Zurücksteigen der vorgelegten Schwefelsäure stattfinden könnte. Überhaupt muß man Druckschwankungen auch während des Destillierens, also beispielsweise ein Kleinerdrehen der Flamme während der Destillation aus diesem Grunde vermeiden.

Will man denjenigen Betrag des Stickstoffs bestimmen, der in Form von Eiweiß allein gebunden ist, so kann man die Pflanzenteile direkt mit 10 prozentiger Kochsalzlösung extrahieren und im Extrakt den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmen, oder man fällt im Extrakt das Eiweißmaterial mit Kupferhydroxyd nach der Vorschrift von Stutzer: 1 g Substanz wird durch ein feines Sieb gebracht, in einem Becherglase mit 100 ccm Wasser zum Sieden erhitzt, bei stärkehaltigen Substanzen wird 10 Minuten im Wasserbade erwärmt, sodann 0,3—0,4 g aufgeschlämmtes $Cu(OH)_2$ zugesetzt. Zur Herstellung des $Cu(OH)_2$ löst man 100 g $CuSO_4$ in 5 Litern Wasser, setzt 2,5 ccm Glyzerin zu, fällt mit 50,5 g NaOH, welche man auf 1,5 Liter verdünnt hat; man läßt auf dem Filter abtropfen, verreibt in einer Schale mit Wasser (1 Liter Wasser und 5 ccm Glyzerin) und wäscht das Alkali gänzlich aus. Nach dem Erkalten wird filtriert und im ausgewaschenen Rückstande der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Enthielt das Material viel Phosphor, so hat man vor dem Kupferzusatz einige Kubikzentimeter Alaunlösung zuzufügen. Der gefundene Stickstoff gibt mit dem Faktor 6,25 multipliziert den Betrag an Eiweiß an, aber dieser Faktor fußt auf der nicht immer zutreffenden Annahme, daß die Proteine der Samen usw. gerade 16 % Stickstoff enthalten. Ritthausen schlug auf Grund besserer Erfahrungen vor, bei der Analyse von Getreide und Hülsenfrüchten mit 18,2 % Stickstoff den Faktor 5,7 zu benutzen und bei ölreichen Samen den Faktor 5,5.

Die in Keimpflanzen am häufigsten zur Bestimmung gelangenden Amide sind Asparagin und Glutamin. Um Arginin, Lysin, Histidin usw. in Pflanzenextrakten zu bestimmen, besitzen wir noch keine Methoden, denn man muß hier die betreffenden Aminosäuren rein darzustellen suchen, wobei natürlich immer Verluste unterlaufen. Am verhältnismäßig besten sind wir diesbezüglich noch beim Arginin daran, welches, nachdem die Pflanzenextrakte von den durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit worden sind, durch Merkurinitrat ausgefällt werden kann. Will man aber wenigstens approximativ über den Arginingehalt orientiert

sein, geht man in der Weise vor, daß man den Pflanzenextrakt mit Bleiessig in schwachem Überschusse versetzt, das Filtrat vom Bleiniederschlag bei neutraler oder schwach saurer Reaktion im Wasserbade stark einengt, dann mit Schwefelsäure stark ansäuert, filtriert und nun mit einer konzentrierten Lösung von Phosphorwolframsäure vermischt; der entstehende Niederschlag wird von der Flüssigkeit abgenutscht und nach dem Ablaufen des Filtrates in einer Schale mit 5 prozentiger Schwefelsäure angerührt, darauf wieder aufs Filter gebracht. Dann übergießt man ihn mit Wasser und fügt unter Umrühren so viel zerriebenes Bariumhydroxyd hinzu, daß es im Überschuß vorhanden ist, so daß sich beim Einleiten von Kohlensäure in das Filtrat ein Niederschlag bilden muß. Man entfernt nun das in der Flüssigkeit vorhandene Ammoniak ohne Erwärmen. Denn durch das Erhitzen würde das Kali, welches sich fast immer in den durch Phosphorwolframsäure erzeugten Niederschlägen befindet, durch den Baryt freigemacht und das Arginin zersetzt. Man bringt also das Gemisch des Niederschlags mit Wasser und Bariumhydroxyd in eine flache Glasschale und rührt es solange mit der Hand oder maschinell, bis das Ammoniak verschwunden ist, oder man bläst längere Zeit mittels Aspirators einen Luftstrom durch. Nach dem Austreiben des Ammoniaks entfernt man die unlöslichen Bariumverbindungen durch Filtration und Ausfällung des überschüssigen Baryts aus dem Filtrat durch Einleiten von Kohlensäure. Die barytfreie Flüssigkeit neutralisiert man mit Salpetersäure und dampft sie am Wasserbade stark ein, wobei man sie durch Zusatz von Salpetersäure immer schwach sauer erhält. Aus dem Filtrate des Niederschlages mit Silbernitrat erhält man zuerst das Histidin, dann das Arginin; es ist aber zweckmäßiger den Rückstand der Salpetersäureverdampfung als Histidinnitrat zu wägen; die Zahlen sind, wie gesagt, nur approximativ. Dagegen ist es ganz unmöglich, den Gehalt an Tyrosin oder anderen Aminosäuren auch nur angenähert festzustellen, es bleibt nichts übrig, als die betreffenden Substanzen (am besten aus den alkoholischen, mit Bleiessig gefällten und mit Schwefelwasserstoff entbleiten) aus den Pflanzenextrakten darzustellen.

Die *quantitative Bestimmung des Asparagins und Glutamins* oder besser des Amidstickstoffs nach dem Verfahren von R. Sachsse gründet sich auf die Beobachtung, daß diese beiden Amide beim Kochen mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure unter Wasseraufnahme in Asparaginsäure respektive Glutaminsäure und Ammoniak zerfallen, wobei nach der Bildungsgleichung 132 Teile wasserfreies Asparagin 17 Teile Ammoniak, 146 Teile Glutamin 17 Teile Ammoniak liefern. Zu dem asparagin- oder glutaminhaltigen Extrakt werden pro 100 ccm 8—10 ccm konzentrierte Salzsäure oder 2,5—3 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt und sodann zirka 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit mit Natronlauge annähernd neutralisiert, gebrannte Magnesia zugesetzt, um das Ammoniak frei zu machen, und überdestilliert. Das übergehende Ammoniak wird so wie bei der Kjeldahlbestimmung in titrierter Schwefelsäure aufgefangen (Fig. 73). Der Unterschied bei der Bestimmung des Amidstickstoffs gegenüber der Bestimmung des aus dem Eiweiß stammenden Gesamtstickstoffs ist also der, daß hier eine durchgreifende Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz eines Katalysators, eventuell noch eines Oxydationsmittels notwendig ist, um die Zersetzung herbeizuführen,

dort Kochen mit sehr verdünnter Mineralsäure. Bei Berechnung des Asparagin- oder Glutamingehaltes muß man das vor dem Erhitzen mit Säure schon vorhandene Ammoniak in Abrechnung bringen. Immerhin müssen aber auch sonstige Substanzen, welche beim Erwärmen mit Säure Ammoniak abspalten, entfernt werden und auch die Proteine selbst sind in dieser Hinsicht nicht unbedenklich, sondern müssen durch Zusatz von reinem Tannin, unter Beifügung von etwas Bleiazetat, oder mit Phosphorwolframsäure ausgefällt werden. Ist das mit Phosphorwolframsäure geschehen, so muß man diese aus dem Filtrat erst entfernen, was durch Zusatz von Bleiazetat geschehen kann. Man kann auf diese Weise — auch das Vorhandensein von Allantoin und anderen, noch nicht isolierten Stickstoffverbindungen bedingt einen Fehler — also eigentlich nur approximativ den Gesamtgehalt an Asparagin und Glutamin oder besser an dem aus diesen Amiden abspaltbaren Ammoniak bestimmen; in der Regel finden sich allerdings in ein und der-

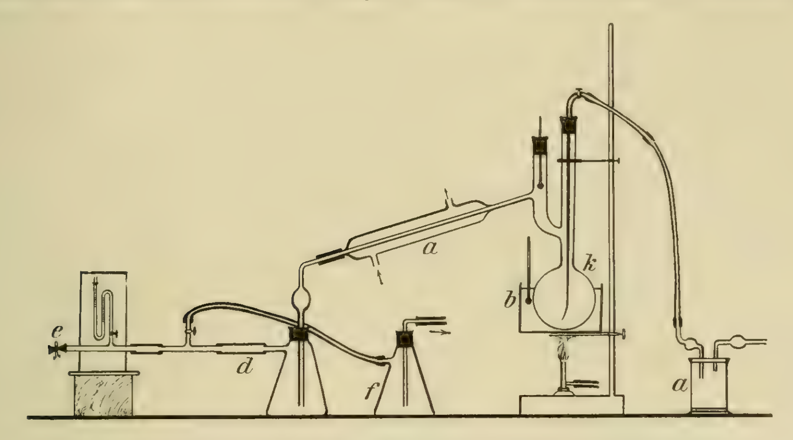


Fig. 73. Destillation des aus Asparagin oder Glutamin in Freiheit gesetzten Ammoniaks.

a = Waschflasche zum Eintreten von Luft durch die Kapillare *k*, damit das Stoßen verhindert wird; *b* = Wasserbad; *a* = Kühler; *f* = Vorstoß; *d* = Schlauch; *e* = zur Pumpe führendes Absaugrohr.

selben Pflanze die beiden Amide Asparagin und Glutamin nicht in gleicher Menge vor, sondern, überwiegt das eine, so ist das andere nur in Spuren vorhanden, so daß man also im großen ganzen doch von einer Asparagin-, respektive Glutaminbestimmung sprechen kann.

Um vorher im Extrakte das Ammoniak zu bestimmen, verwendet man 2—3 g der Substanz, übergießt sie mit zirka 100 ccm Wasser in einem Fraktionierkolben, füllt mittels eines breiten, bis auf den Boden des Kolbens reichenden Trichters gut gewaschene Magnesia ein und destilliert im Vakuum an der Pumpe zirka 80 ccm Flüssigkeit ab. Um das Aufschäumen zu verhindern, fügt man 1—2 Tropfen filtriertes Butterfett oder ein Stückchen Paraffin hinzu; übrigens ist die abgebildete Form des Fraktionskolbens schon hinreichend, um ein Überspritzen zu verhindern. Die übergehende Flüssigkeit wird in einer mit 10 ccm $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure beschickten Vorlage aufgefangen. Sind die Extrakte stark sauer, so neutralisiert man sie vorher mit Soda.

Zur *quantitativen Bestimmung der Nitrate* geht man am besten

nach der volumetrischen Methode vor, welche wohl etwas langwierig, aber bei einiger Übung nicht schwierig und sehr genau ist. Diese von Schulze-Tiemann ausgearbeitete Methode beruht auf der Überführung von Salpetersäure in Stickoxyde durch Reduktion mit Ferrosalzen, Eisenvitriol oder besser Ferrochlorid und der volumetrischen Messung der gebildeten Stickoxyde. 100—300 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit werden in einer Schale vorsichtig auf 50 ccm eingedampft und in einen zirka 150 ccm fassenden Rundkolben, am besten in einen solchen, wie man ihn zur Kjeldahlbestimmung verwendet, gebracht (der Kolben darf nicht dünnwandig sein, da er sonst durch den äußeren Luftdruck zusammengepreßt wird), ohne etwa ausgeschiedene feste Körnchen zu beachten (Fig. 74). Der Zersetzungskolben *A* ist mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstöpsel verschlossen, in dessen Bohrungen sich die beiden gebogenen Röhren *a b c* und *e f g* befinden. Die erstere ist bei *a* zu einer nicht zu feinen Spitze ausgezogen und ragt etwa 2 cm unter dem Stöpsel hervor, während die zweite Röhre genau mit dem Stöpsel abschneidet. An die beiden Röhren sind die beiden Glasrohre *cd* und *gh* durch Kautschukschläuche angefügt und durch an diesen Stellen angebrachte Quetschhähne von ihnen absperrbar. Über das untere Ende von *gh* ist ein Kautschukschlauch gezogen, damit die Röhre, welche während der Gasentwicklung oft heftig gegen das Eudiometer schlägt, nicht zerbricht. Die Glaswanne *B* ist mit 10prozentiger Natronlauge gefüllt, welche vor dem Gebrauch ausgekocht worden ist und mit der auch das möglichst enge, in $^1/_{10}$ ccm geteilte Eudiometer *C* gefüllt ist. Man kocht bei offenen Quetschhähnen die Flüssigkeit in dem Zersetzungskolben noch weiter ein und bringt nach einiger Zeit das untere Ende des Entwicklungsrohres *efgh* in die Natronlauge, so daß die aus dem Glasrohre entweichenden Dämpfe durch die Lauge streichen. Nach einigen Minuten drückt man den Kautschukschlauch bei *g* mit den Fingern zusammen; sobald durch Kochen die Luft vollständig entfernt worden ist, steigt die Natronlauge infolge des Vakuums schnell ins Rohr zurück und man fühlt am Finger einen kleinen Stoß. In diesem Falle setzt man bei *g* den Quetschhahn auf und läßt die Wasserdämpfe durch *abcd* entweichen, bis nur noch zirka 10 ccm Flüssigkeit in dem Zersetzungskolben vorhanden sind. Dann entfernt man die Flamme, schließt den Quetschhahn bei *c* und spritzt die Röhre *cd* mit Wasser voll. In dem Kautschukschlauch bei *c* bleibt leicht eine Luftblase zurück, die man durch Drücken mit den Fingern entfernt. Man schiebt die Meßröhre *C* über das Ende des Entwicklungsrohres *efgh*, so daß dieses 2 bis 3 cm hineinragt, und wartet einige Minuten, bis sich im Innern des

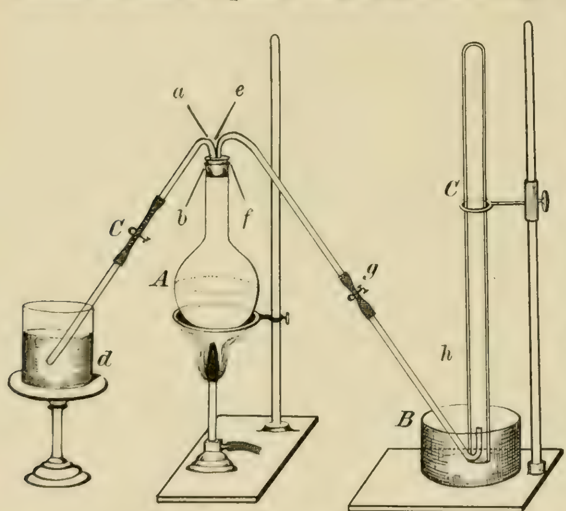


Fig. 74. Nitratbestimmungs-Apparat.

Kolbens A ein Vakuum durch Zusammenziehen der Schläuche bei c und g zu erkennen gibt. Inzwischen gießt man eine nahezu gesättigte, frischbereitete Ferrochloridlösung in ein kleines Becherglas, welches in seinem oberen Teile, dort wo der Raum von 20 ccm bezeichnet ist, eine Marke trägt, zwei andere Gläser stellt man, mit konzentrierter Salzsäure teilweise gefüllt, beiseite. Man taucht die Röhre cd in die Eisenlösung, öffnet den Quetschhahn bei c und läßt vorsichtig 15 bis 20 ccm der Lösung einsaugen, worauf man zweimal in die Röhre $abcd$ etwas Salzsäure nachsteigen läßt. Nun erwärmt man den Kolben gelinde, bis die Kautschukschläuche bei c und g anfangen, sich aufzublähen. Nun ersetzt man den Quetschhahn bei g durch Daumen und Zeigefinger und wartet, bis hier der Druck des Gases etwas stärker wird, worauf man das entwickelte Stickoxyd ins Eudiometer hinüberströmen läßt. Gegen Ende der Operation verstärkt man die Flamme und erhitzt, bis sich der Gasstand im Eudiometer nicht mehr vermehrt. Dann schließt man den Quetschhahn bei g, entfernt die Flamme, um sie nach einiger Zeit wieder, unter Öffnen des Quetschhahnes g, unter den Kolben zu setzen. Dadurch treibt man die letzten Reste des Gases nach C; man muß aber, um Vollständigkeit zu erzielen, diese Operation öfters wiederholen. Die Meßröhre wird nach Beendigung der Operation unter Verschluß mit dem Daumen in einen hohen, mit Wasser von 15 ^{0} C gefüllten Glaszylinder gebracht und vollkommen in Wasser untergetaucht. Nach 15—20 Minuten ergreift man die Röhre mit einer Klammer und hebt sie soweit aus dem Wasser empor, daß die Flüssigkeit außen und innen gleich hoch steht und liest das Volumen des Gases, die Temperatur des Wassers und den Barometerstand ab. Nach der Formel

$$V_1 = \frac{V \cdot (B - f) \cdot 273}{760\,(273 + t)}$$

reduziert man das Gasvolumen auf 0 ^{0} und 760 mm Barometerstand, wobei V das abgelesene Volumen, B der Barometerstand, t die Temperatur und f die der Temperatur entsprechende, in den gewöhnlichen physikalischen Tabellen angegebene Tension des Wasserdampfes bedeutet. Die durch V_1 ausgedrückten Kubikzentimeter Stickoxyd, mit dem Faktor 2,417 multipliziert, geben die entsprechenden Milligramme N_2O_5.

Ammoniak kann, wie vorhin dargelegt, *durch Destillation mit Magnesia und Auffangen in gestellter Schwefelsäure bestimmt* werden, deren Überschuß mit titrierter Lauge zurückgemessen wird. Sind aber die vorhandenen Ammoniakmengen so gering, daß sie maßanalytisch nicht festgestellt werden können, so bedient man sich zweckmäßig der kolorimetrischen Methode. Die Flüssigkeit (150 ccm) wird mit 1 ccm Natronlauge und 2 ccm Sodalösung versetzt, man läßt den Niederschlag (von Erdalkalien und Eisen) absetzen und gießt die klare Lösung (100 ccm) in einen Meßzylinder. Gleichzeitig stellt man Vergleichsflüssigkeiten von bestimmtem Ammoniakgehalt (z. B. $^1/_{10}$, $^1/_5$, $^1/_2$, 1, 2 ccm einer Salmiaklösung, wovon jeder Kubikzentimeter 0,05 mg Ammoniak enthält), ebenfalls auf 100 ccm verdünnt, her. Jedem der Zylinder fügt man 1 ccm frisch bereitetes Neßlersches Reagens zu. Entsteht ein Niederschlag, so ist das Wasser zu verdünnen, es darf jedenfalls nur eine Färbung entstehen. (Neßlersche Lösung ist eine alkalische Auflösung von Merkurikaliumjodid und wird folgendermaßen

14*

bereitet: Man löst 6 g Quecksilbersublimat in 50 ccm ammoniakfreien Wassers, wie man es durch Destillation von bereits destilliertem Wasser unter Zusatz von Soda erhält, wobei man das erste Viertel des übergehenden Wassers wegschüttet und die Destillation sistiert, wenn fünf Sechstel des ursprünglichen Wasserquantums abdestilliert sind. Das Wasser wird auf 80 ° C erwärmt und das Sublimat in einer Porzellanschale darin gelöst, dann 7,4 g Jodkali, in 50 ccm Wasser gelöst, hinzugegeben, erkalten gelassen, die überstehende Flüssigkeit abgegossen, dreimal durch Dekantation mit je 20 ccm kalten Wassers gewaschen, um alles Chlorid möglichst zu entfernen. Nun fügt man 5 g Jodkali hinzu, wobei auf Zusatz von wenig Wasser das Merkurijodid in Lösung geht. Die so erhaltene Lösung spült man in einen 100-ccm-Kolben, fügt 20 g NaOH in wenig Wasser gelöst hinzu und verdünnt nach dem Erkalten der Lösung mit Wasser auf 100 ccm. Hat sich die Flüssigkeit völlig geklärt, so hebert man sie sorgfältig in eine reine Flasche ab und bewahrt im Dunkeln auf.) Durch Vergleich mit den Probezylindern, eventuell nach Ablassen aus denselben, ermittelt man die vorhandene Ammoniakmenge. Sehr verdünnte Ammoniaklösungen werden durch Neßlersches Reagens gelb gefärbt; statt des Versuchszylinders hat man, wie das im Königschen Kolorimeter der Fall ist, Skalen aus gefärbten Papieren oder Gläsern. Bei gefärbten Säften ist dieses Verfahren nicht direkt anwendbar, sondern man läßt eine Destillation unter Zugabe von Magnesiumoxyd oder Bleioxyd vorhergehen und füllt das Destillat auf das ursprüngliche oder ein bestimmtes Volumen auf und bezieht den im Vergleich bestimmten Ammoniakgehalt auf dieses Volumen.

Bei *Darstellung der Proteine*, welche hier nur mit wenigen Worten berührt sei — bezüglich der Details muß auf die Arbeiten von Osborne verwiesen werden —, z. B. aus Samen, muß zunächst für weitgehende Zerkleinerung des Materials, etwa mit einer Mühle, gesorgt werden. Die Menge des erforderlichen Lösungsmittels muß so groß sein, daß mindestens drei Viertel des verwendeten Quantums in filtrierbarer Form vorliegen; die Lösungen sind durch öfters zu erneuernden Zusatz von Toluol vor der Invasion durch Mikroorganismen zu sichern; die Extraktion soll, da sich feinzerteilte Proteine sehr schnell in geeigneten Lösungsmitteln lösen, nicht über allzulange Zeit ausgedehnt werden, es genügt kurz dauerndes, aber tüchtiges Umrühren. Der erhaltene Brei wird auf ein feinmaschiges Koliertuch gebracht, das auf einem Holzrahmen an vier auf den Kreuzenden eingeschlagenen Nägeln ausgebreitet wird, worauf die Hauptmasse der Flüssigkeit aus dem auf das Tuch geschütteten Brei in eine darunterstehende Schale abläuft. Der Rückstand wird dann in einer starken Presse ausgequetscht und die Extraktflüssigkeiten vereinigt über ein Papierbreifilter an der Pumpe abgesaugt. Man mischt in einem großen Gefäß Filtrierpapierstücke und Wasser und zerteilt dann das nasse Papier mit der Hand zu einem feinen Brei; man wendet soviel Papier an, daß man nachher eine halbfeste Masse bekommt. Nun wird dieser Brei in einen Büchnertrichter gefüllt, so daß er die Nutsche ganz anfüllt, der Nutschenkolben dann mit der Saugpumpe verbunden und fest angesaugt, wobei der Papierbrei mit der Hand festgedrückt wird. Wenn alles Wasser abgesaugt ist, bildet das Papier eine leicht konkave Oberfläche, so daß es an den Seiten dicker liegt; vor der Filtration des Extraktes wird das Papierfilter mit

einer Quantität des Proteinlösungsmittels ausgewaschen. Mittels eines solchen Filters lassen sich Eiweißextrakte meistens leicht und klar filtrieren, wobei man, wenn sich nach einiger Zeit der Durchgang verzögern sollte, durch leichtes Aufkratzen der obersten Lage für eine Beseitigung der Hemmung sorgt. Vorher läßt man die festen suspendierten Teilchen gut absetzen, dekantiert und bringt ganz zum Schluß auch die festen Anteile aufs Filter, besonders muß man dafür sorgen, daß die Stärke gut abgesetzt ist, weil die kleinen Stärkekörnchen besonders leicht durchs Koliertuch gehen. Die Samenextrakte, die viel Gummistoffe, Schleimsubstanzen und andere die Filter verstopfende Körper führen, werden in solcher Weise von ihnen befreit, daß man zum Extrakte eine große Menge in kleine Stückchen zerrissenen Filtrierpapiers gibt und das Papier mit dem Glasstab zu einem Brei zerkleinert, bis die Papiermenge einen halbfesten Brei bildet, der dann mit einer starken Presse ausgepreßt wird. Während die verstopfenden Substanzen vom Papier gut zurückgehalten werden, läßt sich die Proteinlösung durch entsprechend starken Druck sehr vollständig aus dem Papier entfernen und kann dann leicht an der Nutsche abgesaugt werden. Um die Proteine aus der Lösung zu fällen, säuert man an, wodurch das Proteinsalz der Säure gefällt wird, Alkohol oder Ammonsulfat wird angewendet, um kleine Quantitäten von Proteinen von großen Flüssigkeitsmengen zu trennen. Durch fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat kann man auch die Trennung einzelner Proteine voneinander erzielen. Zur Trennung der Proteine von begleitenden Salzen wendet man am besten die Dialyse an. Ein großes Stück gänzlich durchfeuchteten Pergamentpapiers wird auf den Boden einer Porzellanschale gebreitet und die zu dialysierende Lösung daraufgegossen. Natürlich darf das verwendete Pergamentpapier, wie das häufig bei länger lagerndem Papier der Fall ist, keine Risse oder kleinen Löcher enthalten, man verwendet in diesem Falle besser die Pergamenthülsen von Schleicher & Schüll, welche allerdings nur in verhältnismäßig geringer Größe im Handel zu haben sind; auch die langen Dialysierschläuche, welche, u-förmig aufgewickelt, röhrenartig in das Dialysiergefäß hineinzuhängen sind, pflegen nicht immer rißfrei zu sein. Die Papierränder des Pergamentpapiers werden dann um ein Stück Glasrohr von zirka 10 cm Länge und 1 cm Weite vereinigt und als Sack daran befestigt, indem man eine starke Schnur mehrmals außen um das Papier herumwickelt. Dieser Dialysierbeutel muß groß genug sein, um über der Oberfläche der eingeschlossenen Flüssigkeit noch hinlänglich Raum zu lassen, so daß er das durch Einströmen des Wassers vermehrte Volumen tragen kann. Das Glasrohr an der Mündung des Beutels kann auch dazu dienen, um von Zeit zu Zeit Toluol zur Sterilisierung der Flüssigkeit einfließen zu lassen. Ein Stück Pergamentpapier im Ausmaße 70 × 100 cm liefert einen Beutel von 3—4 Litern Inhalt. Der Beutel wird nun in einem Trog aufgehängt und aus einer Wasserleitung ein ganz langsamer Wasserstrom durchströmen gelassen. Ein mit 10 prozentiger Kochsalzlösung erhaltener Extrakt wird so binnen fünf Tagen chlorfrei. Man kann die wässerige Lösung auch in ungefähr demselben Volumen Alkohol im Pergamentbeutel suspendieren; da das Wasser rasch in den Alkohol hineindiffundiert, wird die Proteinlösung konzentriert und die nachherige Fällung gelingt mit relativ geringen Mengen Alkohol.

VIII. Phosphatide.

Unter diesem Namen bezeichnet man phosphor- und stickstoffhaltige Substanzen, welche in manchen physikalischen Eigenschaften den Fetten nahestehen, jedoch mit Wasser kolloidale Lösungen geben, aus denen sie durch Säuren ausgeflockt werden, halbfeste, wachsartige, gelbliche oder weißliche Massen, die mit Wasser aufquellen und eigenartige, als Myelinformen bezeichnete Gebilde liefern; das bekannteste der Phosphatide ist das Lezithin. Die Phosphatide sind meist leicht löslich in Äther, Chloroform, Benzol, schwer löslich in Azeton, sehr leicht an der Luft unter Absorption von Sauerstoff veränderlich, vermögen andere Substanzen in Lösung zu halten, durch Alkalien sind sie ebenso wie durch gewisse Fermente spaltbar, Lezithin kann durch Platinchlorid in alkoholischer Lösung unter Veränderung gefällt werden. Zur Darstellung der Phosphatide aus Pflanzensamen zieht man die fein zerriebenen Samen mit Äther aus und extrahiert den verbliebenen Rückstand mit Alkohol bei 50—60 ^{0}, wobei die Phosphatide in Lösung gehen und aus dem Verdampfungsrückstand des Alkoholextraktes durch Äther ausgezogen werden können. Abwechselnd extrahiert man mit Wasser und bringt sowohl die alkoholischen als die wässerigen Lösungen in einen Scheidetrichter, worauf man die wässerige Schicht, ohne daß man zu viel umgeschüttelt hat, entfernt. Die zurückgebliebene ätherische Schicht, welche die Phosphatide enthält, wird durch wiederholtes Schütteln mit Wasser gereinigt. Dabei bilden sich Emulsionen, die man durch Eintragen von Kochsalz oder Natriumsulfatkristallen beseitigen kann. Den mit geschmolzenem Natriumsulfat getrockneten Rückstand destilliert man und behandelt den festen Destillationsrückstand mit Azeton, welcher den Rest des Fettes herauslöst, oder aber man schüttet direkt den alkoholischen Extrakt in möglichst viel destilliertes Wasser, wobei eine stark opalisierende Lösung entsteht und fügt verdünnte Schwefelsäure dazu bis die Ausflockung beginnt, bringt durch Umrühren zum Zusammenballen, gießt die Flüssigkeit ab und schüttet verdünnte Schwefelsäure über den Niederschlag, den man dann abdekantiert. Schließlich bringt man die feuchte Masse in den Scheidetrichter und schüttelt mit so viel Äther durch, daß zwei deutliche Schichten entstehen, trennt die ätherische Lösung von der wässerigen, trocknet sie mit geschmolzenem Natriumsulfat, destilliert den Äther ab und behält die wachsartige Phosphatidmasse zurück. Aus Blättern und anderen chlorophyllhaltigen Pflanzenteilen ist es bisher noch nicht gelungen, Phosphatide darzustellen. Neben den Phosphatiden findet sich in Pflanzen eine in Alkohol und Äther unlösliche Substanz, die bei Spaltung mit starken Säuren oder Laugen unter Druck Phosphorsäure und Inosit liefert, das P h y t i n. Es ist vielleicht das erste Stadium des Phosphorstoffwechsels der Pflanze und hat jedenfalls eine äußerst komplizierte Struktur, in welcher der Phosphorsäurerest wahrscheinlich als Pyrophosphorsäure gebunden ist. Bei seiner Verwertung im Organismus ist wahrscheinlich nicht der organische, sondern der Phosphorsäurerest maßgebend. Keimenden Samen kommt jedenfalls die Fähigkeit zu, Phytin zu spalten und die Phosphorsäure daraus zu assimilieren. In fruchtbaren Böden, besonders bei reichlicher Düngung mit Stallmist und Superphosphat ist das Phosphorsäureanhydrid nach S t o k l a s a

meist in organischer Verbindung vertreten, die Phosphatide, Phytine, Nukleoproteide spielen hier die Hauptrolle, in 1 g Wiesen-, Wald- oder Torfboden sind 18—34 mg Phosphatide enthalten. Bezüglich der analytischen Bestimmung des Phytins begnügt man sich mit der Bestimmung des organisch gebundenen und anorganischen Phosphors im alkoholischen oder ätherischen Extrakt. Auf die Unsicherheiten bezüglich der Unterscheidung von anorganischem und organischem Phosphor im Phytin hat kürzlich Egorof (Zur Kenntnis der Eigenschaften des Phytins, Biochemische Zeitschrift 42, 432, 1912) aufmerksam gemacht.

Um zu prüfen, ob Samen und Keimpflanzen anorganische Phosphate zum Unterschied von jenem Phosphor, der in organischer Bindung vorliegt, enthalten, schlagen Schulze und Castoro[1]) folgenden Weg ein: Das Verfahren gründet sich auf die Tatsache, daß Di- und Trikalziumphosphat in einer neutralen Lösung von Ammoniumzitrat löslich sind, und daß man die Phosphorsäure aus dieser Lösung durch Magnesiamixtur (Mischung von Chlormagnesium, Chlorammonium und Ammoniak) ausfällen kann. Ein abgewogenes Quantum der Samen (9—10 g) oder feingepulverten, lufttrockenen Keimpflanzen wird mit zirka 100 ccm 1 prozentiger Salzsäure 2 Stunden bei Zimmertemperatur behandelt, abfiltriert und das Filtrat mit Ammoniak und Chlorkalzium versetzt; der Niederschlag wird abfiltriert, ausgewaschen und dann mit 50 ccm Ammoniumzitratlösung übergossen. Das Gemisch wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, filtriert und das Filtrat mit Magnesiamixtur versetzt, um die von dem Zitrat gelöste Phosphorsäure als Ammoniummagnesiumphosphat zu fällen. Die mit Magnesiamixtur bewirkte Fällung muß zur vollständigen Ausfällung mindestens zwei Tage stehen. Die Samen von Lupinus angustifolius, Lens esculenta, Vicia Faba, Zea Mays, Picea excelsa usw. lieferten nach diesem Verfahren keine Fällungen, nur bei Pinus Strobus wurde eine solche erhalten; in allen diesen Objekten findet sich also kein anorganischer Phosphor vor. Anders in etiolierten Keimpflanzen, wie in zwölftägigen Keimpflanzen von Lens esculenta, Vicia Faba und Zea Mays, die nach der Kultur bei 60 ^{0} getrocknet oder nach dem 24 stündigen Liegen an der Luft in absoluten Alkohol geworfen und dann über Schwefelsäure stehen gelassen waren. Vierwöchentliche Keimpflanzen von Vicia sativa lieferten so 0,49 % P_2O_5, zwölftägige von Lens esculenta 0,32 % P_2O_5; der daraus berechnete Phosphorsäuregehalt beträgt für die Samen der Wicke 1,17 %, für die der Lupinensamen 1,64 %, für die Samen der Ackerbohne 1,39 %. Wenn also bei der Aschenanalyse beträchtliche Mengen Phosphor sich in den grünen Keimpflanzen vorfinden, so sind diese auf phosphorhaltige Proteinstoffe, auf Phosphatide, Nukleoproteide usw. zu beziehen.

Für die Phosphorsäurebestimmung in naß gewonnenen Aschen ist in erster Linie die Neumannsche Bestimmung wegen ihrer Einfachheit und Genauigkeit auch bei geringen Mengen an Phosphor zu empfehlen. Die Phosphorsäure wird hier als Ammoniumphosphormolybdat gefällt und der ausgewaschene Niederschlag in überschüssiger $\frac{n}{2}$ Natronlauge gelöst, nach dem Wegkochen des Ammoniaks und völligem Er-

[1]) E. Schulze und N. Castoro, Findet man in Pflanzensamen und in Keimpflanzen anorganische Phosphate? Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 477 (1904).

kalten wird mit $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure zurücktitriert. Da ein Molekül Phosphorsäure des gelben Niederschlages bei dieser Behandlung zu seiner Neutralisation unter Anwendung von Phenolphthalein 56 Moleküle Natronlauge erfordert, so entsprechen jedem verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{2}$ Natronlauge 1,268 mg P_2O_5. Wir brauchen also 50 prozentige Ammonnitratlösung, 10 prozentige kalt gelöste und filtrierte Ammonmolybdatlösung, $\frac{n}{2}$ Natronlauge und $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure. Die Substanz wird im Säuregemisch verascht, wobei man darauf Rücksicht nimmt, daß nicht mehr als 40 ccm Säuregemisch verwendet werden. Nachdem die Veraschung beendet ist, werden 50 ccm Ammonnitrat zugesetzt und auf 70—80 ^{0} erhitzt, bis eben Blasen aufsteigen, dann fügt man 40 ccm Ammonmolybdat dazu, schüttelt den entstandenen Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammon etwa eine halbe Minute gründlich durcheinander, wodurch er sich körniger abscheidet, und läßt 15 Minuten stehen. Man dekantiert und filtriert durch ein kleines aschefreies Faltenfilter, das mit eiskaltem Wasser benetzt wird, damit die Filterporen sich zusammenziehen und die Lösung klar filtriert. Man filtriert die klare Flüssigkeit durch entsprechendes Neigen des Kolbens, ohne den Niederschlag aufzurühren, so daß das Filter nur bis zu zwei Dritteln seines Volumens gefüllt ist, in einem Zuge durch. Man wäscht dann in ebenderselben Weise drei- bis viermal mit eiskaltem Wasser, indem man auch das Filterinnere vorher mit eiskaltem Wasser bespült. Das ausgewaschene Filter gibt man zur Hauptmenge des Niederschlages in den Kolben zurück, fügt 150 ccm Wasser hinzu, zerteilt durch heftiges Schütteln das Filter durch die ganze Flüssigkeit und löst den gelben Niederschlag, indem man aus einer Bürette gemessene Mengen $\frac{n}{2}$ Natronlauge hinzufügt, unter beständigem Schütteln und ohne zu erwärmen eben zu einer farblosen Flüssigkeit auf. Dann wird noch ein Überschuß von 5—6 ccm $\frac{n}{2}$ Natronlauge hinzugefügt und die Flüssigkeit etwa 15 Minuten gekocht, bis mit den Wasserdämpfen kein feuchtes Lackmuspapier bläuendes Gas mehr entweicht. Nach Abkühlen unter der Wasserleitung und eventuellem Auffüllen auf 150 ccm wird die Flüssigkeit durch einige Tropfen Phenolphthalein stark gerötet und der Überschuß an Alkali mit $\frac{n}{2}$ Säure zurücktitriert. Die Anzahl der zugefügten Kubikzentimeter $\frac{n}{2}$ Natronlauge abzüglich der verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{2}$ Säure liefert, mit dem Faktor 1,268 multipliziert, die Menge P_2O_5 in Milligrammen.

Will man Phosphorsäure in der Glühasche bestimmen, so übergießt man diese in der Porzellanschale mit Salpetersäure, verdampft zur Trockene und wiederholt diesen Prozeß, um alle Kieselsäure unlöslich zu machen. Zum Filtrat wird in der Hitze unter Umrühren ein Überschuß einer Lösung von molybdänsaurem Ammon in Salpetersäure

gefügt, dann zirka ein Fünftel des Volumens an kalt gesättigter Ammonnitratlösung und die Mischung 12 Stunden bei 70 ⁰ gehalten. Die Flüssigkeit über dem Niederschlag wird durch ein mit Ammonnitrat befeuchtetes Filter gegossen, und wenn sie sich mit Molybdänlösung (80 g Ammoniummolybdat in 640 ccm H_2O und 160 ccm NH_3 vom spezifischen Gewicht 0,92 gelöst und unter Kühlung in 960 ccm HNO_3 vom spezifischen Gewicht 1,2 und 240 ccm Wasser eingetragen, die Mischung nach 24 Stunden filtriert und in nur leicht verschlossenen Flaschen aufbewahrt) noch trübt, wieder zurückgegossen und mit mehr Molybdänlösung gefällt. Der Niederschlag aus dem Becherglase wird, möglichst ohne ihn aufs Filter zu bringen, ebenso wie der auf dem Filter befindliche Anteil, mit verdünnter Salpetersäure gewaschen, der ca. 5% Ammoniumnitrat zugesetzt ist, dann wird das Becherglas mit dem Niederschlag unter das Filter gestellt und der Niederschlag mit verdünntem, warmem Ammoniak quantitativ vom Filter gelöst, die ablaufende Flüssigkeit bringt auch den Niederschlag im Becherglas zur Lösung. Die Lösung wird jetzt, nach Neutralisieren des Ammoniaküberschusses durch Salzsäure, mit Magnesiamixtur versetzt (110 g kristallisierten Magnesiumchlorids und 140 g Ammonchlorid werden in 1300 ccm Wasser gelöst, 700 g 10 prozentiger Ammoniakflüssigkeit dazugefügt, einige Tage stehengelassen und von einem etwa entstandenen Niederschlag abfiltriert). Nach Fällen des Niederschlages setzt man noch ein Viertel des Volumens Ammoniak vom spezifischen Gewicht 0,96 hinzu und läßt 24 Stunden stehen. Der entstandene kristallinische Niederschlag besteht aus Magnesiumammoniumphosphat und ist derselbe, wie er bei der Bestimmung der Magnesia durch Natriumammoniumphosphat entsteht. Er wird abfiltriert, gewaschen, getrocknet, geglüht und als Magnesiapyrophosphat gewogen. 100 Teile $Mg_2P_2O_7$ entsprechen 27,93 Teilen Phosphor, respektive 63,96 Teilen P_2O_5. Auf diese Weise bestimmt man also den Phosphor in der Asche und bezieht ihn, soweit es grüne Teile oder Samen anlangt, auf organische Phosphorverbindungen, da nach S c h u l z e und C a s t o r o anorganische Phosphate in diesen Pflanzenteilen nicht vorhanden sind.

IX. Die Enzyme.

Die Enzyme oder Fermente spielen bei den Umsetzungen im Pflanzenkörper eine große Rolle, sie wirken als organische Katalysatoren, indem sie Vorgänge, welche sonst unendlich langsam vor sich gingen, zu beschleunigtem Ablauf bringen. Rein dargestellt ist bis heute noch kein Enzym, und so sind wir über die chemische Natur der Fermente gar nicht orientiert, wir können sie nur nach ihrer Wirkung beurteilen, und so handelt es sich beim Studium des Fermentes immer nur um Herstellung von Präparaten, welche die Wirkung des Fermentes besitzen. Wir müssen heute annehmen, daß die Organenzyme, sei es, daß sie extrazellulär an Orten wirken, die von ihrem Entstehungsort in der Zelle entfernt liegen, sei es, daß wir es mit intrazellulären Endoenzymen zu tun haben, nicht jederzeit in aktiver Form vorliegen, sondern aus einer inaktiven Vorstufe durch ein anderes Ferment oder überhaupt irgendein Stoffwechselprodukt in Freiheit und Aktion gesetzt und nach Vollendung ihrer Wirksamkeit wieder in die inaktive Form übergeführt

werden. In der Fermentarbeit äußert sich die Lebenskraft des Protoplasten, denn wiewohl die Enzyme an sich leblose Stoffwechselprodukte vorstellen, so überraschend intensiv und mannigfaltig sich auch ihre Wirkungsweise gestalten mag, so werden sie doch offenbar sinn- und zweckmäßig durch die Lebenskraft des Protoplasmas hervorgebracht und zur rechten Zeit in Aktivität versetzt. Diese „Lebenskraft“ mag wohl nur in dem komplizierten Verwobensein von Permeabilitätsverhältnissen der Plasmahaut, Oberflächenspannungsänderungen, Verteilung und Adsorption von Stoffen in dem komplexen System von Lipoiden, Eiweißkörpern, Wasser in der Plasmamembran beruhen, die sich fortwährend ändern und so die wechselnde Mannigfaltigkeit der untereinander zur Reaktion kommenden Stoffe bestimmen, wobei sich die Natur der Plasmamembran unter dem Einfluß äußerer und innerer Korrelationsverhältnisse fortwährend ändert, sie ist uns heute aber in ihren Details gänzlich unbekannt, tritt uns als einheitliche, und zwar zwecktätige Kraftänderung jedes Organismus entgegen und wir können nur als mit einem gegebenen Faktor mit ihr rechnen. Daß die Lebenskraft des Protoplasten nicht als Summe der Fermentwirkungen aufgefaßt werden kann, zeigen uns die Erscheinungen in der Autolyse. Wenn wir das Leben eines pflanzlichen Organismus durch Mittel abtöten, welche die ziemlich resistenten Enzyme intakt lassen, also etwa durch Plasmagifte, wie Chloroform, Toluol, Äther, oder am besten nach der Methode P a l l a d i n s durch Abkühlen auf tiefe Temperaturen und Wiederauftauen, so macht sich die Fermentarbeit in ganz anderer Weise geltend als im lebenden Organismus. Während hier die Fermente harmonisch nacheinander arbeiten, so daß die Wirkung eines Fermentes an der Grenze seiner Wirkungssphäre durch die Arbeit eines nächsten abgelöst wird und das Endresultat uns als die Arbeitssumme einer Reihe von Enzymen erscheint, so daß sich also normalerweise kein Produkt anhäufen kann, sondern die Endprodukte schließlich den Körper in irgendeiner Form verlassen oder in ihm in inaktiver Form deponiert werden können, beginnt im Autolysengemisch des abgetöteten Organismus ein „unkoordiniertes“ Spiel (P a l l a d i n) der Enzyme, in welchem alles abgebaut, alles niedergerissen wird; jedes Enzym sucht gewissermaßen möglichst viel seiner Wirkung zugänglichen Stoffes an sich zu reißen, um ihn zu zerstören. Demnach ist auch wohl zwischen „abgetötet“ und „gestorben“ zu unterscheiden: im ersteren Falle setzt nach Vernichtung der die Enzymarbeit regulierenden Lebenskraft des Protoplasten die unkoordinierte Arbeit der Enzyme ein, im letzteren ist diese mit jener erloschen. In einem anschaulichen Bilde vergleicht P a l l a d i n die Enzyme mit untergeordnetem Dienstpersonal, welches vom Protoplasten zur richtigen Zeit mit Arbeiten betraut und nach Beendigung der Arbeit wieder eingesperrt, in den inaktiven Zustand versetzt wird. Das koordinierte Zusammenarbeiten der Fermente ist nur als Ausschnitt eines das Leben der Organismen überhaupt beherrschenden Gesetzes, der Metabiose, aufzufassen. So wie im Leben kein Stoff übrig bleiben darf, sondern jedes Endprodukt eines Stoffwechselvorganges von einem anderen Organismus als Arbeitsmaterial übernommen werden muß, so daß jeder Stoff sich unablässig im Kreise bewegt, bewegt durch eine aneinanderschließende Reihe differenter Organismen, so bewegen auch im Einzelindividuum die vom Protoplasten aktivierten und regulierten Enzyme jeden in den Organismus ein-

gehenden Stoff in Teilstadien des Auf- und Abbaues, bis er als Endprodukt des Individualstoffwechsels den Körper verläßt, um im Organismus eines anderen Lebewesens seine weitere Verwandlung zu erfahren.

Je nach ihrer Wirkung unterscheiden wir kohlehydratspaltende Fermente, wie Diastase, Invertase, Zymase, Emulsin, eiweißspaltende (proteolytische) Fermente, wie Pepsin, Trypsin, Lab, Papayotin, fettspaltende Lipasen und Oxydationsfermente, welche, wie Oxygenase, Oxydase, Peroxydase, Katalase, zweifellos bei den oxybiotischen Vorgängen eine große Rolle spielen.

Zur Darstellung von Fermenten aus den sie produzierenden Organen kann man in zweierlei Weise vorgehen: entweder man extrahiert die Fermente aus den fein zerkleinerten Pflanzenteilen durch geeignete Lösungsmittel, oder man zertrümmert die Zellen vollständig, wie das zuerst Buchner bei der Hefe praktiziert hat, um die Zymase darzustellen, wobei die Hefezellen durch Kieselguhr vollkommen zerrieben und der Saft unter großem hydraulischem Druck durch Filter abgepreßt wurde. Es gibt Enzyme, die ohne Schwierigkeit durch Wasser, dem man nötigenfalls geeignete, das Ferment nicht schädigende Antiseptika, wie Chloroform oder Toluol, zufügt, extrahiert werden können, nämlich jene, die von den Zellen auch im natürlichen Zustande nach außen sezerniert werden, die Ektoenzyme, andere, die Endoenzyme, welche auch normalerweise nur innerhalb der Zelle wirken, niemals von dieser ausgeschieden werden, können auf diese Weise nicht, sondern nur durch vollständiges Zerreißen und Auspressen der Zellen gewonnen werden. Indessen handelt es sich bei höheren Pflanzen vornehmlich um Ektoenzyme. Der Preßsaft wird am geeignetsten durch sterile Filter von porösem Ton, Asbest, Kieselguhr filtriert, wodurch auch gleichzeitig eine Scheidung von fremden festen Bestandteilen erreicht wird; indessen kann es auch vorkommen, daß einzelne Enzyme im Filter zurückbleiben. Es ist vielfach beobachtet worden, daß nach dem Durchfiltrieren die enzymatische Kraft des Saftes geschwächt oder aufgehoben war. Bisweilen wendet man diese Methode mit Vorteil zur Trennung zweier Enzyme an, doch lassen sich hier bestimmte Vorschriften nicht geben. Die aus gebranntem Ton hergestellten Filterkerzen nach Chamberland und die Ballonfilter nach Pukall müssen vor dem Gebrauch einer genauen Revision unterzogen werden, da sie oft kleinste Sprünge und Undichtigkeiten besitzen, die ein keimfreies Filtrieren ausschließen; man taucht sie unter Wasser und verbindet sie mit einer Druckluftpumpe, der kleinste Riß ist daran zu erkennen, daß beim Anblasen an der betreffenden Stelle Luftblasen auftreten. Man erhält diese Porzellanfilter im Handel in beliebiger Größe und kann den Preßsaft natürlich auch in graduierten Gefäßen auffangen. Will man ein festes Enzympräparat gewinnen, so fängt man den Preßsaft beim Filtrieren direkt in Litergefäßen auf, die zu drei Vierteln mit starkem Alkohol gefüllt sind, und saugt den weißen Niederschlag, der sich bildet, ab; die Niederschläge sammelt man auf einem Filter, wäscht sie mit Alkohol und Äther und trocknet sie im Exsikkator über Schwefelsäure. In trockenem Zustande sind die Fermentpräparate durchaus haltbar, besonders wenn sie, in evakuierte Gefäße eingeschlossen, vor Luft dauernd geschützt, in kühlem Raume aufbewahrt werden. In Lösungen ist die Haltbarkeit viel beschränkter und eine Aufbewahrung des unveränderten Prä-

parates ist nicht länger als vier Tage, bei Beachtung aller Kautelen höchstens drei Wochen möglich. Diese Kautelen bestehen vor allem in der genauen Beachtung der von dem betreffenden Enzym beanspruchten Reaktion des Mediums, im allgemeinen ist neutrale Reaktion am besten, eine leicht sauere jedenfalls viel eher angängig als eine alkalische, etwa derart, daß sehr empfindliches Lackmuspapier leicht gerötet wird, wie es das destillierte Wasser des Laboratoriums gewöhnlich von selbst tut. Ferner muß für Aufbewahrung im Eisschrank und für ein geeignetes Desinfektionsmittel gesorgt werden. Die besten sind Toluol oder Xylol, Chloroform und Thymol. Zu je 100 ccm der Lösung wird zirka 1 ccm Toluol zugegeben, einigemal umgeschüttelt und die Lösung bei Bedarf mit Pipetten entnommen. Von Chloroform nimmt man ebenfalls im Verhältnis 1 : 100, bewahre aber in sehr gut verschlossener Flasche auf, weil sonst die oberen Schichten leicht an Chloroform verarmen; Trübungen, welche sich mit der Zeit um die am Boden liegenden Chloroformtropfen bilden, bewirken keinen Verlust an wirksamen Stoffen; bei Entnahme von Flüssigkeit rühre man nicht auf, sondern schüttle erst nach Abpipettierung der gewünschten Menge wieder um. Thymol trägt man zerrieben in fester Form in die Flüssigkeit ein.

Zur Isolierung der glykolytischen Enzyme, deren Ubiquität im Gewebe höherer Pflanzen Stoklasa wahrscheinlich gemacht hat, geht der genannte Autor folgendermaßen vor[1]: 5—6 kg junge, frische, keine Zersetzung durch Fäulnis aufweisende Pflanzensubstanz wird zerkleinert und der Saft daraus unter einem Drucke von 300—400 Atmosphären ausgepreßt. Dem so gewonnenen Safte wird ein Gemisch von Alkohol und Äther zugesetzt, worauf ein an Eiweißstoffen reicher Niederschlag zu Boden fällt. Diese Operation geschieht in einem hohen, sterilisierten Zylinder. Auf 500 ccm des zellfreien Saftes kommen 600 ccm eines Gemisches von 400 ccm Alkohol und 200 ccm Äther. Nach einem Augenblicke setzt man Äther im Überschuß zu und hebert die oberhalb des Niederschlages aus Alkohol und Äther bestehende Flüssigkeit sofort ab. Nun wird neuerdings Äther aufgegossen und sodann sofort die überstehende Flüssigkeit abgehebert. Der ganze Vorgang der Fällung des Pflanzensaftes muß möglichst rasch vorgenommen werden, weil Alkohol und Äther bei längerer Berührung mit dem gefällten Enzym dessen Aktivität schwächen würden. Die Flüssigkeit wird daher nach dem Abhebern oder Abgießen sofort vollständig filtriert, was man durch Verwendung von feiner Kolierleinwand und Abpressen durch dieselbe am besten zustandebringt. Das so gewonnene Rohenzym wird in luftverdünntem Raume über Schwefelsäure getrocknet. Mit 6—10 g dieses Enzyms wurden dann zur Prüfung seiner Wirksamkeit 50 ccm einer 15 prozentigen Traubenzuckerlösung unter Zusatz von 0,5 K_3PO_4 mit aseptischen Kautelen und unter Zusatz von Thymol zusammengebracht und dann der Verlust an Zucker sowie die gebildeten Produkte bestimmt.

Von den lipolytischen Enzymen der Pflanzen sind die Methoden der Darstellung und die Prüfungsverfahren für das fettspaltende Enzym der Rizinussamen ausgearbeitet, welches bekanntlich in der Technik der Seifenfabrikation Verwendung findet. Der geschälte oder auch

---

[1]) J. Stoklasa, A. Ernest, K. Chocensky, Über die glykolytischen Enzyme im Pflanzenorganismus, Ztschr. f. phyciol. Chem. **50**, 303 (1907).

ungeschälte Rizinussamen wird in einer Mühle mit Wasser fein vermahlen; nachdem die Samenmilch eine Zentrifuge passiert hat, welche alle lipolytisch nicht wirksamen Bestandteile des Samens zurückhält, verläßt das Enzym als Emulsion den Apparat; die Emulsion enthält neben dem größten Teil des Rizinusöls, fein damit emulsioniert, die unlöslichen Eiweißstoffe des Plasmas, darunter auch die Lipase, während das Emulsionswasser alle wasserlöslichen Bestandteile, darunter auch das säurebildende Enzym, aufgenommen hat. Diese zentrifugierte Fermentmilch wird nun bei zirka 24 ° C der Gärung überlassen, wobei sich die fermenthaltige Emulsion als dicker Schaum an der Oberfläche des sauren Unterwassers absetzt und so leicht gewonnen werden kann. Die Lösung enthält außer der Lipase noch 38 % Rizinusölsäure, 4 % Eiweißkörper und andere feste Substanzen und 58 % Wasser[1]). Das Enzym wird am besten durch Essigsäure, Milchsäure oder Buttersäure aktiviert, wenn diese in nicht zu starkem Überschuß vorliegen; in diesem Falle sind hinlänglich Säuren zugegen, und zur Aktivierung braucht man nur für kleine Zusätze von Manganoxydulsulfat (0,15—0,5 g per 100 g Samenöl) zu sorgen. Das Ferment ist bei steriler, kühler Aufbewahrung einige Zeit haltbar, indessen nimmt seine Wirksamkeit beständig ab: so wurde von der Rizinuslipase Leinöl noch nach 5 Tagen im Betrage von 75 % innerhalb 20 Stunden gespalten, nach 13 Tagen zu 74 %, nach 26 zu 72 %, nach 56 Tagen zu 67 %, nach 107 Tagen zu 55 % und nach 15 Monaten noch zu 44 %, also immerhin eine langdauernde Wirksamkeit. Iwanow[2]) zerrieb zur Gewinnung von Lipase trockene, unreife Ölsamen mit Sand und Glyzerin. Der dabei entstehende dicke Brei wurde während 24 Stunden digeriert, um die Fermente vollkommen in Lösung zu bringen. Dann wurde der Glyzerinauszug abgepreßt und mit dem gleichen Volumen reiner Ölsäure vermischt. Waren die Samen frisch und saftig, so war ein Zusatz von Wasser unnötig, sonst wurden stets 1—2 ccm Wasser zu dem Sand-Glyzeringemisch zugefügt, wobei aber der Wassergehalt der Ölsäure-Glyzerinmischung nie höher als auf 8—10 % stieg. Die Samen wurden stets im Stadium intensivster Ölbildung gewählt. Die Mischung wurde nur umgerührt und nach Zusatz von 2—3 Tropfen 10 prozentigen Thymols ruhig stehen gelassen.

Die in der Pflanzenzelle tätigen proteolytischen Fermente hat man sowohl im ruhenden Keim wie in gekeimten Samen untersucht. Aron und Klempin[3]) schlugen folgenden Weg ein, um die Fermente aus Hafer zu isolieren: Geschroteter Hafer wurde 10—12 Stunden in der Kugelmühle in einem Gemisch gleicher Teile Wasser und Glyzerin gründlich zermahlen, der feste Rückstand in einer Filterpresse abgepreßt und das ablaufende Filtrat in hohen Zylindern durch Sedimentieren geklärt. Die darauf abgeheberte braungelbe Flüssigkeit wurde schließlich noch mehrmals filtriert. Der Glyzerinextrakt, welcher sich auch nach wochenlangem Aufbewahren im Eiskasten proteolytisch

[1]) E. Hoyer, Über fermentative Fettspaltung, Ztschr. f. physiol. Chem. **50**, 414 (1907).

[2]) S. Iwanow, Über den Stoffwechsel beim Reifen ölhaltiger Samen usw., Beih. z. bot. Centr.-Bl. **28**, 159 (1911).

[3]) H. Aron und P. Klempin, Studien über die proteolytischen Enzyme usw., Bioch. Ztschr. **9**, 163 (1908), nach M. Jacoby, in Abderhaldens Biochem. Arbeitsmethoden III, 1, 413.

wirksam erwies, wird am besten bei saurer, weniger gut bei neutraler, am schwächsten bei alkalischer Reaktion wirksam erhalten.

Für die Fragen des Eiweißstoffwechsels bei höheren Pflanzen, bei deren Keimungsentwicklung proteolytische Enzyme an der Arbeit sind, um aus den hochmolekularen Reserveproteinen die Bausteine zu schaffen und diese an Ort und Stelle wieder zu synthetisieren, schuf E. Schulze[1]) indirekte Fermentbestimmungsmethoden, bei denen nicht das Enzym, sondern das Produkt seiner Arbeit untersucht wurde, indem in Keimpflanzen oder Teilen von Keimpflanzen mit oder ohne Kotyledonen, nach dem Zerkleinern und Trocknen bei 60 ° auf die Menge der in ihnen enthaltenen Stickstoffverbindungen geprüft und die Menge des Gesamt- und Eiweißstickstoffs, der mit Phosphorwolframsäure fällbare Stickstoff und der Amidstickstoff bestimmt wurden. Auf diese Weise kann man die Art und Schnelligkeit des proteolytischen Zerfalles messen, wie aus folgender Tabelle Schulzes ersichtlich ist. Vom Gesamtstickstoff entfallen in Prozenten auf:

	Proteinstoffe	Nichtproteinartige Verbindungen	
Lupinus luteus.			
Ungekeimte Samen	93,36	6,64	schneller Eiweißzerfall
6tägige Keimpflanzen	58,89	41,20	
15 „ „	18,30	81,61	
24 „ „	18,96	81,04	
Lupinus angustifolius.			
Ungekeimte Samen	92,89	7,11	schneller Eiweißzerfall
3tägige Keimpflanzen	84,13	15,87	
6 „ „	48,31	51,69	
9 „ „	34,73	65,27	
12 „ „	28,67	71,33	
15 „ „	22,33	77,67	
18 „ „	22,78	72,22	
Zea Mays.			
Ungekeimte Samen	97,95	2,05	langsamer Eiweißzerfall
5tägige Keimpflanzen	95,82	4,18	
9 „ „	91,62	8,38	
12 „ „	85,30	14,70	
16 „ „	66,67	33,33	

In ungekeimten Samen wurden keine Aminosäuren, in 6—7 tägigen Keimpflanzen 0,6 % Aminosäuren gefunden. Butkewitsch[2]) geht so vor, daß er die gekeimten Samen bei 35—40 ° vortrocknet und die Trocknung mit Äther vollendet; dann wird das Pulver mit Wasser und Thymol einige Zeit bei Brutschranktemperatur gehalten, während in einem Kontrollversuch die Wasseraufschwemmung des Pulvers gleich zum Sieden erhitzt wird. Die Produkte der Fermentspaltung werden dann nach Schulze untersucht. Weis[3]) isolierte das proteolytische Enzym aus gekeimter Gerste in folgender Weise: Das Material wurde zu einem dicken Brei zusammengequetscht und drei Teile des Malzes mit vier Teilen Wasser angerührt. Nach einigem Stehen und wiederholtem Umrühren wird solange durch ein Faltenfilter gegossen, bis die

[1]) E. Schulze, Über den Umsatz der Eiweißstoffe in der lebenden Pflanze, Ztschr. f. physiol. Chem. **24**, 18 (1898), **30**, 241 (1900).

[2]) W. Butkewitsch, Über das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms in gekeimten Samen, Ztschr. f. physiol. Chem. **32**, 1 (1901).

[3]) F. Weis, Über das proteolytische und ein eiweißkoagulierendes Enzym in keimender Gerste, Ztschr. f. physiol. Chem. **31**, 79 (1900).

Flüssigkeit klar ist. Das Enzym ist in Lösung bei 0 ⁰ eine Woche haltbar. Seine Wirkung kann dadurch gezeigt werden, daß nach seiner Einwirkung auf Weizenglutin die mit Tannin nicht fällbaren Substanzen zunehmen. Vines hat als Reaktion auf proteolytische Pflanzenfermente die Eigentümlichkeit dieser benutzt, aus Eiweiß Tryptophan abzuspalten. Abderhalden[1]) hat mit Schittenhelm und Dammhahn peptolytische Fermente in keimenden Samen nachgewiesen: Der Preßsaft des ungekeimten Samens erweist sich unwirksam und wird erst nach längerem Stehen bei 37 ⁰ C aktiv. Die Lupinen-, Weizen-, Mais- und Gerstensamen wurden vor ihrer Verwendung mit 4 prozentiger Borsäurelösung gewaschen, mit Quarzsand zu einem feinen Brei zerrieben und dann so viel Quarzsand dazugefügt, bis das Ganze einen dicken Kuchen bildete, der nun im Koliertuch zunächst bei einem Drucke von 150, später unter einem solchen von 300 Atmosphären ausgepreßt wurde.

Zum *qualitativen Nachweis* der Diastase[2]) geht man in folgender Weise vor: Eine etwa 1 prozentige Lösung von Stärke, welche durch Kochen hergestellt ist, wird bei angenähert neutraler Reaktion mit etwas von der Fermentlösung bei Zimmertemperatur oder, wenn man die Reaktion beschleunigen will, bei 37 ⁰ C versetzt. Entnimmt man in Abständen von einigen Minuten Proben, so färben sie sich, mit einigen Tropfen 50 fach verdünnter Lugolscher Lösung versetzt, nicht mehr rein blau, sondern der Reihe nach die zunächst entnommene Probe violett, die späteren rot, gelbbraun, schließlich gar nicht mehr bis auf die ursprüngliche hellgelbe Jodfarbe, während die Reduktion gegenüber Fehlings Lösung sofort beim Aufkochen mit derselben eintritt. Invertase: Die Fermentlösung wird bei neutraler oder ganz schwach saurer Reaktion mit einer 5 prozentigen Lösung von Rohrzucker versetzt und nach ganz kurzer oder bei etwas längerer Einwirkung, wenn nur sehr verdünnte Fermentlösungen vorliegen, die unmittelbare Reduktion von Fehlings Lösung wahrgenommen. Bei langem Stehen oder langem Kochen verwandelt sich, besonders in alkalischer Lösung, der Rohrzucker von selbst zum kleinen Teil in Invertzucker, daher können nur kräftige Reduktionswirkungen nach kurzem Kochen als Resultat der Enzymwirkung betrachtet werden. Zymase läßt sich am besten durch ihre Einwirkung auf Traubenzucker erkennen. Man füllt den längeren Schenkel eines Gärkölbchens mit einem Gemisch von einem Teil 50 prozentiger Traubenzuckerlösung und zwei Teilen der Fermentlösung, so daß keine Luftblase mit eingeschlossen ist und beobachtet kürzere oder längere Zeit, daß der Schenkel sich mit Kohlendioyxd füllt. Nur ganz frische Preßsäfte sind gärkräftig, ältere lassen sich aber, nachdem sie inaktiv geworden sind, leicht durch Zusatz von frischem, gekochtem Preßsaft reaktivieren. Emulsin wird durch Eintragen in eine frische Aufschwemmung von Amygdalin erkannt, in der es Blausäuregeruch hervorruft. Pepsin läßt sich am

[1]) E. Abderhalden und A. Schitttenhelm, Die Wirkung der proteolytischen Fermente keimender Samen des Weizens und der Lupinen, Ztschr. f. physiol. Chem. **49**, 26 (1906); E. Abderhalden und Dammhahn, Über den Gehalt ungekeimter und gekeimter Samen verschiedener Pflanzenarten an peptolytischen Fermenten, ebendas. **57**, 332 (1908).

[2]) Nach L. Michaelis in Abderhaldens Biochem. Arbeitsmethoden III, 1, Seite 16.

besten mittels der M. Jacobyschen Probe erkennen, welche darauf beruht, daß ein in den Rizinussamen enthaltener Eiweißkörper bei der für die Pepsinverdauung erforderlichen sauren Reaktion unlöslich ist, und daß die feinen Flocken, welche er bildet, durch Pepsin rasch gelöst werden. Das bekannte Toxin der Rizinussamen, das Rizin, steht in keiner Beziehung zu diesem Eiweißkörper, weshalb die reinen, fast eiweißfreien Merckschen Rizinpräparate für diese Probe nicht zu brauchen sind, sondern nur das bei der A.-G. Chemische Werke, Charlottenburg, käufliche „Rizin nach Jacoby". 2 g dieses Pulvers werden in 50 ccm 3prozentiger Kochsalzlösung getan, einige Minuten stark durchgeschüttelt, das Gemisch für eine Stunde in ein lauwarmes Wasserbad gestellt und dann abfiltriert. Von dem völlig klaren Filtrat wird je 1 Volumteil mit $1/2$ bis $1/3$ Volumteil $\frac{n}{10}$ Salzsäure versetzt; die entstehende Trübung setzt sich bald in feinen Flocken ab; es muß solange Salzsäure zugegeben werden, bis eine kräftige Trübung entstanden ist, ein Salzsäureüberschuß ist aber zu vermeiden, da sich die Trübung darin wieder löst. Dieses Reagens hält sich mehrere Tage. Nun versetzt man 5 ccm der gut durchgeschüttelten Rizinaufschwemmung mit 1 ccm der Pepsinlösung; schon bei Zimmertemperatur, noch schneller bei 37 °, tritt eine Aufhellung und schließlich vollständige Klärung der Flüssigkeit ein und mit dieser sehr empfindlichen Probe, bei welcher nur sorgfältig auf die Zugabe der eben richtigen Salzsäuremenge geachtet werden muß, können auch die geringsten Spuren Pepsin nachgewiesen werden.

Huld und Levison weisen Pepsin mittels Edestins nach, welches in saurer Lösung löslich, in alkalischer unlöslich ist. Man kann es aus der sauren Lösung durch Alkalien oder besser durch festes Kochsalz ausfällen. Man stellt eine 1 promillige Edestinlösung in $\frac{n}{30}$ Salzsäure her und verfährt im übrigen wie bei der Rizinmethode. Nachdem das Gläschen etwa eine halbe Stunde mit Pepsin versetzt im Wasserbade gestanden hat, versetzt man eine entnommene Probe mit festem Kochsalz; noch vorhandenes Edestin wird ausgefällt; die Pepsinwirkung äußert sich also im Ausbleiben der Fällung durch Chlornatrium. Labferment erkennt man durch seine Kasein ausfällende Wirkung. Gewöhnliche rohe oder gekochte Milch wird mit 9 Teilen Wasser verdünnt und mit 1 ccm 10prozentiger $CaCl_2$-Lösung auf 100 ccm der verdünnten Milch versetzt, wobei keine Ausfällung entstehen darf. Die Fermentlösung wird bei saurer Reaktion durch Soda, bei alkalischer durch verdünnte Essigsäure genauestens neutralisiert und dann mit der Milchverdünnung zusammengebracht. Es entsteht nach kürzerer oder längerer Zeit (Minuten bis Stunden) plötzlich eine Ausfällung des Milchkaseins, welches das emulgierte Fett mitreißt, so daß die ganze Flüssigkeit klar ist. Man muß sich sehr hüten, auch nur Spuren freier Säure in das Reaktionsgemisch zu bringen, weil diese durch Kaseinfällung Täuschungen herbeiführen können.

Zum Nachweis von Trypsin eignet sich die Kaseinmethode von L. Michaelis: 0,1 g Kasein wird in wenig Wasser mit 10 Tropfen 10prozentiger Sodalösung unter Erwärmen gelöst und mit destilliertem Wasser auf 200 ccm aufgefüllt. Hiervon werden etwa 5 ccm mit 1 ccm der Fermentlösung, welche möglichst klar sein muß, versetzt, ins Wasserbad von 37 ° gestellt und von fünf zu fünf Minuten Proben mit einer

kleinen Pipette entnommen. Diese werden mit Essigsäure versetzt: fällt kein Kasein mehr aus, so hat das Trypsin gewirkt, es kommt aber auch hier sehr darauf an, daß man die richtige Menge Essigsäure zusetzt, weil Kasein in einem Überschuß der Säure wieder löslich ist. Mit einer hergestellten $\frac{1}{4}$ prozentigen Essigsäure ermittelt man, wieviel Tropfen man zu dem frisch bereiteten Kasein-Fermentgemisch, in dem das Trypsin noch nicht gewirkt hat, zugeben muß, um eine gute Fällung zu erreichen, und gibt dann im eigentlichen Versuch die Säure diesem Vorversuch entsprechend zu. Die Methode ist äußerst empfindlich und so rasch durchzuführen, daß der Zusatz eines Desinfektionsmittels unnötig ist. Allerdings kann man hier Trypsin nicht von Erepsin unterscheiden, welches Kasein ebenfalls verdaut. Nach E. Abderhalden führt man den Nachweis tryptischer Fermente sehr scharf durch Spaltung geeigneter Polypeptide, wobei der Eintritt der Spaltung durch das Auskristallisieren schwer löslicher Aminosäuren oder durch Drehungsänderung im Polarisationsrohr angezeigt wird. Glyzyl-l-tyrosin ist bei Beobachtung der Aminosäuren-Ausscheidung sehr geeignet: 5 ccm der auf Ferment zu prüfenden Lösung bringt man mit 0,2 g Glyzyl-l-tyrosin und 2 Tropfen Toluol für mehrere Stunden in den Brutschrank; es tritt eine Trübung auf, die nach einiger Zeit zur Abscheidung der charakteristischen, unter dem Mikroskop leicht erkennbaren Kristalle von Tyrosin führt. Papayotin kann durch seine Wirkung auf Serum oder Eieralbumin nachgewiesen werden. Zu der Fermentlösung wird ein wenig dreifach verdünntes Blutserum oder Eieralbumin bei schwach essigsaurer Reaktion in eine Eprouvette getan und das Ganze sofort aufgekocht, vom koagulierten Eiweiß abfiltriert und mit dem Filtrat die Biuretreaktion angestellt. Bei Gegenwart von Papayotin gibt das Filtrat noch in starker Verdünnung eine sehr intensive rote Biuretreaktion. Lipase wird auf die Emulsion eines Neutralfettes einwirken gelassen und an dem Auftreten freier Fettsäuren erkannt. Es gibt Lipasen, die nur bei sehr deutlich saurer Reaktion (2 % Essigsäure) wirken, andere nur bei neutraler oder alkalischer Reaktion. Zur Sicherheit wird man drei entsprechende Parallelproben anstellen. Besonders geeignet statt des Neutralfettes ist Lezithin, welches ebenfalls von den Lipasen zerlegt wird, deswegen, weil es mit den Lipasen sehr gleichmäßige, haltbare Emulsionen gibt, wenn eine abgewogene Menge des käuflichen Lezithins mit der 50 fachen Menge destillierten Wassers einige Stunden geschüttelt worden ist. Eine abgemessene Probe der Mischung wird zunächst mit dem gleichen Volumen absoluten Alkohols versetzt, um die von vornherein darin befindlichen freien Fettsäuren in Lösung zu bringen, und dann mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge gegen Phenolphthalein bis zur Neutralität titriert. Nach der Versuchszeit wird diese Titration nach Alkoholzusatz wiederholt und so die Bildung freier Fettsäuren durch die Lipase festgestellt. Eventuell kann ein unwirksam gewordenes Präparat durch Zusatz von Manganosulfat aktiviert werden (man verwendet auf zirka 10 ccm Ölemulsion 5 ccm einer Lösung von $MnSO_4$ 4 : 1000). Als Desinfiziens kann Chloralhydrat dienen.

Quantitative Bestimmung: Es kann sich bei der quantitativen Bestimmung von Fermenten niemals um absolute, sondern immer nur um relative Werte von Vergleichsproben handeln, ferner

niemals um die Feststellung von Quantitäten, sondern immer nur um Bestimmung der Wirkungsgeschwindigkeit. Nun ist die Geschwindigkeit der Reaktion bei einzelnen Fermenten, z. B. beim Invertin, die einer monomolekularen Reaktion entsprechende, d. h. in jedem Zeitteilchen wird vom Substrat eine der Fermentkonzentration proportionale Menge umgesetzt, ohne daß sie mit der Konzentration des Substrates variiert; hier wird, vorausgesetzt, daß die Konzentration der Rohrzuckerlösung nicht allzusehr von einem Mittelwert abweicht, im Anfang der Reaktion bis zur Erreichung etwa des fünften Teiles des Umsatzes, pro Minute eine Zuckermenge umgesetzt, die der Fermentmenge einfach proportional und von der Rohrzuckermenge fast unabhängig ist. Eine Fermentlösung, die pro Minute bei 18 ^{0} im Anfang der Reaktion 2 x Millimole Zucker invertiert, ist dann doppelt so stark wie eine, welche unter denselben Bedingungen nur x Millimole umsetzt. Dasselbe gilt auch für die Maltase. In den meisten Fällen aber sind die Beziehungen zwischen Fermentmenge und Reaktionsgeschwindigkeit viel komplizierter, die Umsatzgeschwindigkeit auch zu Beginn des Versuches schon ungleichförmig, so daß eine so einfache Proportionalität hier nicht gilt. Man kann nun hier so vorgehen, daß man die Zeiten miteinander vergleicht, die zur Erreichung eines bestimmten Umsatzes erforderlich sind. Wenn eine bestimmte Fermentlösung in einer ganz bestimmten Substratlösung in 10 Minuten die Menge a des Substrates spaltet, wobei eine zweite Fermentlösung dazu 20 Minuten braucht, so schließen wir daraus, daß die erste Fermentlösung eine doppelt so große Konzentration des Katalysators enthält wie die zweite; vermag aber die zweite Fermentlösung in 10 Minuten 2 a Substrat umzusetzen, die erste in derselben Zeit nur a, so folgt daraus nicht, daß die zweite Lösung doppelt so viel Ferment enthält. Wir können ferner selbst die Fermentlösung in Serien so verdünnen, daß die verdünnten Proben in einer passend gewählten Versuchszeit denselben Effekt hervorbringen wie eine als Standardlösung zu verwendende Fermentlösung. Ist eine solche Lösung der Serie z. B. gegenüber der Testlösung zehnfach verdünnt und bewirkt sie zu jeder beliebigen Zeit denselben Effekt wie diese, so enthält die zu prüfende Lösung zehnmal so viel Ferment wie die Testlösung. Aus den verschiedenen Umsätzen zweier Fermentlösungen in einer gegebenen Zeit können wir keine quantitativen Schlüsse auf die Fermentmenge ziehen, wir können nur sagen, daß die langsamer wirkende Lösung weniger Ferment enthält als die schneller wirkende.

Um die quantitative Wirkung eines Enzyms festzustellen, wird man folgendermaßen vorgehen: Als Einheit wird irgendeine Konzentration des betreffenden Fermentes als Testlösung hergestellt und die zu untersuchende Fermentlösung durch Probieren soweit verdünnt, daß sie genau die Wirksamkeit der Standardlösung besitzt. Dann muß die Fermentmenge, vorausgesetzt, daß die gleiche Wirkung auch in einem sonst in bezug auf Temperatur, Reaktion des Substrates usw. völlig gleichen Medium erzielt wurde, in beiden Lösungen dieselbe sein, und sie läßt sich in Relation zu dem gespaltenen Stoff stellen. Es muß nur der Punkt genau festgestellt werden können, bei dem sich irgendein beliebiges, aber bestimmtes Maß des Umsatzes vollzogen hat, so wenn z. B. bei Invertin in einer 5 prozentigen Rohrzuckerlösung gerade eine Verminderung des Drehungswinkels im Polarisationsrohr um 1 ^{0} ein-

getreten ist oder wenn bei Zymase gerade eine bestimmte Menge Kohlendioxyd gebildet ist, das man durch Auffangen in einem mit dem Gärkölbchen verbundenen Natronkalkrohr bestimmt, bei Pepsin gerade eine vollständige Aufhellung des Rizins oder Edestins eingetreten ist, bei Trypsin, wenn das Kasein gerade verschwunden ist, usw.

Es sei als Beispiel die quantitative Bestimmung des diastatischen Ferments nach J. Wohlgemuth[1]) vorangestellt: Die dazu notwendigen Reagenzlösungen sind 1. eine 1 prozentige Stärkelösung aus löslicher Stärke in destilliertem Wasser, 2. eine $\frac{n}{10}$ Jodlösung. Eine Reihe von fortlaufend numerierten Reagenzgläsern wird mit absteigenden Mengen der zu untersuchenden Fermentlösung beschickt, so daß in das erste Gläschen 1 ccm, in das zweite 0,5 ccm, in das dritte 0,25 ccm, in das vierte 0,125 ccm usw. kommen, und zu jedem Gläschen 5 ccm 1 prozentige Stärkelösung dazugefügt. Jedes Röhrchen wird sofort, nachdem es die Stärkelösung erhalten hat, in ein Gefäß mit Eiswasser gebracht, in dem sich ein Drahtkorb zur Aufnahme der Gläschen befindet. Diese Abkühlung bezweckt, vorläufig jede Fermentwirkung hintanzuhalten. Dann wird der Drahtkorb mit sämtlichen Gläsern in ein Wasserbad von 38 bis 40 ^{0} übertragen und 30 Minuten bis 1 Stunde bei dieser Temperatur belassen. Darauf kommen sämtliche Gläschen wieder für kurze Zeit in das Eiswasser, damit die Fermentwirkung in allen gleichzeitig unterbrochen werde; sie werden dann etwa bis fingerbreit vom Rande mit gewöhnlichem Wasser aufgefüllt und schließlich mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung in geringem Überschuß versetzt. Dabei treten verschiedene Färbungen auf, wie dunkelblau, blauviolett, rotgelb und gelb. Diejenigen Gläschen welche eine gelbe oder rotgelbe Farbe aufweisen, enthalten kein höheres Abbauprodukt der Stärke als Erythrodextrin oder Achroodextrin; die mit blauvioletter Farbe enthalten ein Gemisch von Stärke und Erythrodextrin, die mit dunkelblauer Farbe vorwiegend unveränderte Stärke.

Als unterste Grenze der Wirksamkeit (limes) gilt dasjenige Gläschen, in welchem zuerst die blaue Farbe erkennbar ist; meist hat dieses Gläschen eine violette Farbe, mitunter begegnet man aber auch Röhrchen, bei denen neben einem starken roten Ton ein blauer kaum oder äußerst schwach zu erkennen ist. In diesen Fällen, in welchen man also schwankt, welches Röhrchen als limes anzusetzen wäre, fügt man am besten noch einen Tropfen Jodlösung hinzu und beobachtet nun beim Umschütteln, ob der blaue Farbenton bestehen bleibt oder in Rotbraun übergeht. Im ersteren Falle wird dieses Röhrchen schon als unterste Grenze anzusehen sein, im anderen dagegen erst das nächstfolgende. Aus der vor dem limes-Röhrchen stehenden Portion wird dann die Fermentwirkung so berechnet, daß man die Anzahl Kubikzentimeter einer 1 prozentigen Stärkelösung bestimmt, die durch 1 ccm der untersuchten Fermentlösung in der gleichen Zeit bis zum Dextrin abgebaut wird. Hat man beispielsweise den Versuch auf 30 Minuten bei einer Temperatur von 38 ^{0} ausgedehnt und gefunden, daß 0,05 ccm der Fermentlösung gerade noch genügten, um 5 ccm Stärkelösung vollkommen bis zu Dextrin

[1]) J. Wohlgemuth, Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Ferments Bioch. Ztschr. 9, 1 (1908).

abzubauen, so würde sich daraus für 1 ccm berechnen $D\frac{38^0}{30} = \frac{1}{0{,}05} \cdot 5 = 100$, wobei unter D die diastatische Kraft für 1 ccm der Enzymlösung verstanden wird. Dauert der Versuch längere Zeit, so muß man einen Tropfen Toluol als Desinfiziens zufügen. Indessen hat Wohlgemuth die Methode so verfeinert, daß man auch bei sehr geringen Diastasenmengen mit einer Versuchsdauer von 30—60 Minuten auskommt; man verwendet dann statt der 1 prozentigen Stärkelösung eine nur 1 promillige und setzt von dieser nur 2 ccm zu jedem Gläschen hinzu; dann kommen die Gläschen in ein Wasserbad von 38—40 °, werden nach 30, respektive 60 Minuten herausgenommen, abgekühlt und nun nicht mit Wasser aufgefüllt, sondern sofort mit Jod versetzt, wozu man sich hier ebenfalls nicht einer $\frac{n}{10}$, sondern einer $\frac{n}{50}$ Jodlösung bedient. Man verwendet am besten Preßsäfte des betreffenden Organs.

Wollen wir eine bestimmte Lösung auf ihren Gehalt an Pepsin untersuchen, gehen wir folgendermaßen vor[1]: Man stellt in der vorher beschriebenen Weise eine saure Rizinaufschwemmung her. Ferner werden 0,2 g käufliches Pepsin in 100 ccm Wasser gelöst und in einem Vorversuch ausprobiert, wieviel Kubikzentimeter nötig sind, um 5 ccm der Rizinaufschwemmung im Wasserbad von 38 ° in einer zur Beobachtung geeigneten Zeit aufzuhellen. Angenommen, daß 1 ccm unserer Pepsinlösung diese Aufhellung gerade in 25 Minuten zustande bringe, während 0,9 ccm dies nicht vollkommen tun. Darauf stellt man von der zu untersuchenden Pepsinlösung Verdünnungen in folgender Weise her: 8 Eprouvetten werden mit je 1 ccm destillierten Wassers gefüllt; man nimmt eine trockene Pipette von 1 ccm Inhalt, entnimmt der unbekannten Fermentlösung 1 ccm und gibt ihn in das erste Röhrchen, wobei man gut vermischt, indem man mit derselben Pipette einigemal aufzieht und wieder ausbläst. Dann entnimmt man mit derselben Pipette 1 ccm der Mischung und überträgt ihn in die zweite Eprouvette; man mischt wieder, überträgt von der Mischung wieder 1 ccm in das dritte Röhrchen, und fährt so mit derselben Pipette bis zum achten Röhrchen fort. Nun setzt man zu jedem der Röhrchen je 5 ccm der Rizinaufschwemmung mit einer die entsprechende Menge enthaltenden Meßpipette, indem man sukzessive aus ihr je 5 ccm abläßt; dieses Einfüllen soll möglichst rasch und in einem mit Eiswasser gefüllten Topf vorgenommen werden. Man notiert dann die Zeit und setzt alle Röhrchen auf einem Gestell in ein Wasserbad, dessen Temperatur möglichst genau auf 38 ° C gehalten wird. Die Zeit, innerhalb welcher sich die einzelnen Rizinproben gerade aufhellen, wird notiert, dasjenige Röhrchen, welches dazu 25 Minuten braucht, ist von derselben Enzymkonzentration wie die Testlösung, die als willkürliche Einheit angenommen war. Es sei in unserem Versuche z. B. das dritte Röhrchen der Reihe mit der Verdünnung 1 : 8. Dann ist die ursprünglich zu prüfende Fermentlösung achtmal so stark wie eine Lösung von 0,2 g des angewendeten Testpräparates in 100 ccm Wasser, entspricht also einer Lösung von 1,6 g des Testpepsins in 100 ccm Wasser. Hier erkennt man den gewünschten Endpunkt der Enzymreaktion, die Aufhellung, direkt, bei anderen Methoden, z. B. der Trypsinbestimmung mittels der Kaolinmethode,

[1]) Nach L. Michaelis, l. c. Seite 28,

entnimmt man mit einer Pipette von Zeit zu Zeit kleine Proben und setzt das geeignete Reagens, in diesem Falle also stark verdünnte Essigsäure, zu. Das wichtige Postulat, das Volumen der einzelnen Röhrchen stets gleichzuhalten, ist hier erfüllt. Die einzelnen Röhrchen der Versuchsreihe unterscheiden sich derart, daß jedes folgende die Hälfte des Enzyms im Vergleich zum vorhergehenden enthält. Ein Irrtum um ein Röhrchen ergibt also einen Fehler um die Hälfte des Gesamtwertes; nimmt man z. B. das Röhrchen 3 mit der Testlösung als identisch an, so ergibt sich ein Fermentgehalt von einem Achtel der Testlösung, nimmt man das 4. Röhrchen als identisch an, eine solcher von $^1/_{16}$ der Testlösung. Will man feinere Abstufungen machen, so ist auch das möglich, nur muß auch dann die Reihe in geometrischer Progression geordnet sein, wenn der Abstand zwischen zwei Röhrchen die gleiche Bedeutung haben soll. Michaelis ordnet beispielsweise die Verdünnung nach folgenden Potenzen:

nach Potenzen von			
$^1/_2$,	erhält man die Reihe:	1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$ . . .	
$^2/_3$,	„ „ „ „ :	1, $^2/_3$, $^4/_9$, $^8/_{27}$, $^{16}/_{81}$ . . .	resp. 1, 0,67, 0,44, 0,30, 0,20 .
$^3/_4$,	„ „ „ „ :	1, $^3/_4$, $^9/_{16}$, $^{27}/_{64}$, $^{81}/_{256}$ . . .	„ 1, 0,75, 0,56, 0.42, 0,32 .

In Ausführung der letzten Reihe z. B. gibt man in das erste Röhrchen von der Fermentlösung 1 ccm, kein Wasser; ins zweite 0,75 ccm Fermentlösung + 0,25 ccm Wasser; ins dritte 0,56 ccm Fermentlösung + 0,44 ccm Wasser usf.

Man beginnt zunächst mit einer gröberen Reihe und schreitet dann zu immer feineren Abstufungen fort, solange es die Empfindlichkeit der Methode, d. h. die scharfe Erkennung des Endproduktes der Reaktion gestattet. Ich entnehme aus der Abhandlung von Michaelis ferner die folgende Tabelle, welche die ersten Glieder verschiedener geometrischer Reihen enthält. Jede Horizontalreihe ist eine solche geometrische Reihe, welche die verschiedenen Potenzen der dazu gehörigen Zahl der linken Kolonnen enthält.

	0te	1te	2te	3te	4te	5te	6te	7te	8te Potenz
0,5	1,00	0,500	0,250	0,125	0,0625	0,0312	0,0156	0,00786	0,00393
0,6	1,00	0,600	0,360	0,216	0,130	0,0778	0,0467	0,0280	0,0170
0,7	1,00	0,700	0,490	0,343	0,240	0,168	0,118	0,0824	0,0576
0,8	1,00	0,800	0,640	0,512	0,410	0,328	0,262	0,210	0,168
0,9	1,00	0,900	0,810	0,729	0,656	0,590	0,531	0,478	0,430

Runde Zahlen erhält man, wenn man jedes Glied mit einem bestimmten Faktor multipliziert; so wird aus der ersten Horizontalreihe durch Multiplikation mit 5 die Reihe 5,000, 2,500, 1,2500 usw., der relative Abstand der einzelnen Glieder bleibt dabei natürlich derselbe; gewöhnlich wird man nur zweistellige Zahlen verwenden. Fuld geht nun von dem Prinzip aus, wenn man die stärkste Verdünnung mit 1 bezeichnet, in der Reihe so aufzusteigen, daß man auf jeden Fall zu dem zehnfachen Multiplum gelangt, und zwar ebenfalls mit Hilfe der geometrischen Reihen. Will man die Reihe von der Verdünnung 10 bis 1 in zehn Glieder teilen, so benutzt man eine geometrische Reihe mit dem Exponenten $\sqrt[9]{10}$, will man sie in vier Glieder teilen, eine solche mit dem Exponenten $\sqrt[3]{10}$ usw. Folgende Tabelle von Fuld gibt eine solche Reihe, berechnet auf eine Dezimale, wieder:

10 Glieder	9 Glieder	8 Glieder	7 Glieder	6 Glieder	5 Glieder	4 Glieder	3 Glieder	2 Glieder
1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1,3	1,3	1,4	1,5	1,6	1,8	2,1	3,2	10,0
1,7	1,8	1,9	2,1	2,5	3,2	4,6	10,0	
2,1	2,4	2,7	3,2	4,0	5,6	10,0		
2,8	3,2	3,7	4,6	6,3	10,0			
3,6	4,2	5,2	6,8	10,0				
4,6	5,6	7,2	10,0					
6,0	7,5	10,0						
7,7	10,0							
10,0								

Will man eine Fermentwirkung im Ablauf ständig kontrollieren, so kann man die chemische Methode benutzen, indem man dem Gemisch von Substanz und Fermentlösung in bestimmten Zeitintervallen Proben entnimmt und diese analysiert, oder man stellt eine ganze Reihe der Gemische her und entnimmt nach Ablauf der Intervallszeiten der Reihe je eine Röhrchen, indem man den Ablauf der Fermentwirkung unterbricht. Ein solcher Versuch sei hier bezüglich der Katalasewirkung, die später erst besprochen werden soll, nach Grafe und Linsbauer angeführt: Zahl der benutzten Keimlinge 3, Länge derselben 8 cm, Länge der extrahierten Hypokotylteile 5 cm. Die Pflanzenteile wurden in der Achatreibschale unter Zufügung von Chloroformwasser zerrieben und dem filtrierten Extrakt 50 ccm entsprechend verdünnten Perhydrols zugefügt, von dem Filtrat in bestimmten Zeitintervallen je 10 ccm abpipettiert und hier erst die Katalase durch Zusatz einer bestimmten Menge konzentrierter Salzsäure vernichtet. Dem Stengelbrei, dessen Herstellung $^1/_4$ Minute erforderte, wurden nach dieser Zeit 5 ccm Chloroformwasser zugefügt und die Substanz filtriert. Zum Filtrat wurden nach weiteren 2 Minuten 50 ccm H_2O_2 (5 ccm H_2O_2 verbrauchten 7,2 ccm $Na_2S_2O_3$) zugesetzt. Alle fünf Minuten wurden je 10 ccm abpipettiert, die Katalasewirkung durch 10 ccm konzentrierter HCl unterbrochen, 10 ccm 10prozentiger JK-Lösung zugesetzt und sofort titriert.

Zeit vom Beginn der Katalasewirkung in Minuten	Titer
0	14,4
5	9,1
10	7,8
15	6,25
20	5,15
25	4,15

Die Quantität der in aufeinanderfolgenden gleichen Zeiten von der Katalase verarbeiteten Perhydrolmengen nimmt also ganz beträchtlich ab. Berechnet man die Geschwindigkeitskonstanten nach W. Ostwald für die aufeinanderfolgenden gleichen Zeitintervalle K_1, K_2, K_3 usw. nach der Formel $K = \frac{lg\,C - lg\,C_0}{0{,}4343\,D}$ unter der Annahme einer monomolekularen Reaktion, so ergibt sich eine ziemlich beträchtliche Abnahme von K. So ergab ein Versuch für die ersten 3 Intervalle von je 5 Minuten $K_1 = 0{,}0365$, $K_2 = 0{,}0267$, $K_3 = 0{,}0206$.

Volhard hat zur Verfolgung der quantitativen Pepsinbestimmung folgende Methode ausgearbeitet: 100 g Kasein werden in 1 Liter Wasser

unter Schütteln eingeweicht, dann gibt man 80 ccm n-NaOH dazu und füllt auf 2 Liter auf. Man erwärmt auf 90 ^{0}, um das Kasein in Lösung zu bringen, und versetzt nach dem Abkühlen mit etwas Toluol. In eine langhalsige Flasche mit zwei Marken bei 300 ccm und 400 ccm läßt man zuerst zur Ansäuerung genau 11 ccm n-HCl einfließen, füllt auf 150 ccm auf und gibt 100 ccm der Kaseinlösung zu. Dann wird auf 40 ^{0} erwärmt, eine gemessene Menge der Pepsinlösung zufließen gelassen und auf 300 ccm aufgefüllt. Solcher Kolben stellt man eine ganze Reihe auf und unterbricht in bestimmten Intervallen die Verdauung, indem man 100 ccm 20 prozentiger Natriumsulfatlösung zusetzt, wobei das unverdaute Kasein ausfällt; es wird abfiltriert und je 100 oder 200 ccm des Filtrates mit $\frac{n}{10}$ NaOH unter Verwendung von Phenolphthalein titriert. Von der bestimmten Säuremenge zieht man die vorher bestimmte Azidität der Kaseinlösung und der Pepsinlösung ab. Der Zuwachs an Säure beruht dann auf der Bildung der salzsauren Peptone. Das ausfallende Kasein bindet nämlich einen Teil der Salzsäure, bei Gegenwart von Peptonen jedoch tritt zwischen Pepton und Kasein ein Wettstreit um die Salzsäure ein, und es findet sich um so mehr HCl in Lösung, je mehr Pepton im Vergleich zum Kasein vorhanden ist. Das Plus an verbrauchter Säure gibt also einen Maßstab für die Verarbeitung des Kaseins. Den Fortgang der Reaktion kann man mittels physikalischer (optischer) Methoden an einer einzigen Probe verfolgen, worauf hier nicht eingegangen werden kann. (Über die diesbezügliche von Abderhalden angegebene Methodik sei auf das Referat von L. Michaelis im III. Band der „Biochemischen Arbeitsmethoden" verwiesen.) Sehr wichtig ist das Konstanthalten der Temperatur bei quantitativer Verfolgung der Fermentwirkung, was am besten in einem durch Thermoregulator auf konstanter Temperatur erhaltenen Wasserbade erreicht wird, in welchem die Röhrchen stecken; dagegen ist es illusorisch, in einem Luftthermostaten zu arbeiten, da die Röhrchen nur sehr schwer und langsam die Temperatur des Luftraumes annehmen. Bei manchen Enzymen ist auch Bestrahlung von Einfluß und es ist wohl am besten, nach dem Vorgange von Grafe und Linsbauer die Fermentwirkung in der Dunkelkammer bei rotem Lichte zu verfolgen.

Um die Wirkungsstärke von diastatischen wasserlöslichen Malzpräparaten des Handels zu bestimmen, kann man die Methode von Egloffstein, welche von J. Pollak modifiziert worden ist, verwenden. Zur Bereitung des Stärkekleisters werden 9 g Arow-root-Stärke des Handels und zirka 20 ccm Wasser in einer Reibschale bei gewöhnlicher Temperatur verrieben und dann in 250 ccm heißen Wassers unter allmählichem Umrühren eingetragen. Das Gefäß mit dem Stärkekleister wird in ein Wasserbad gestellt und eine halbe Stunde im Sieden erhalten. Hierauf wird der Kleister möglichst quantitativ in einen 300 ccm enthaltenden kubizierten Kolben gegossen, erkalten gelassen und bis zur Marke aufgefüllt. 6 g des zu untersuchenden diastatischen Produkts werden in einen 300 ccm fassenden kubizierten Kolben absolut quantitativ gespült und bis zur Marke aufgefüllt. 50 ccm des Stärkekleisters werden mit einer Pipette in ein 100 ccm fassendes, mit Thermometer versehenes Kölbchen gebracht, auf 37,5 ^{0} C erwärmt und 20 ccm der 2 prozentigen zu untersuchenden Diastaselösung hinzu-

gefügt; im Momente der Zugabe der Diastaselösung setzt man eine Stoppuhr in Gang und trachtet, die Temperatur möglichst konstant zu erhalten. Nach 6—8 Minuten beginnt man von Minute zu Minute im Gemisch mittels der Jodprobe auf Stärke zu prüfen, der Endpunkt der Verzuckerung ist mit dem Momente des Verschwindens der blauen Farbe und Hervortreten des gelben Farbentones auf Zusatz von Jod deutlich erkennbar. Ist dieser Punkt erreicht, dann wird die Einwirkungsdauer in Minuten an der Stoppuhr abgelesen und stets die doppelte Menge der ursprünglichen 2 prozentigen Diastaselösung in Kubikzentimetern zum eigentlichen Versuche verwendet, als dies das Chronometer in Minuten anzeigt. Hat z. B. der Vorversuch 15 Minuten gedauert, so werden 30 ccm der Diastaselösung zu den restlichen 250 ccm 3 prozentiger Arrow-root-Stärke zugesetzt und im temperierten Wasserbade genau eine halbe Stunde bei 37,5 ^{0} C gehalten. Sodann werden zirka 3 ccm einer 10 prozentigen KOH-Lösung zur Zerstörung der weiteren enzymatischen Wirkung zugesetzt, erkalten gelassen und bis zur Marke bei 300 ccm aufgefüllt. Diese Lösung wird nun in eine Bürette gegossen und in 25 ccm (12,5 + 12,5) Fehlingscher Lösung in der Kochhitze solange eingetropft, bis die blaue Farbe verschwunden ist und im Filtrat nach dem Ansäuern mit Essigsäure und Zusatz von gelbem Blutlaugensalz keine Kupferreaktion mehr erscheint. Man erkennt diesen Punkt auch ohne Probe mit Blutlaugensalz schon daran, daß die Flüssigkeit oberhalb des reduzierten Kupferoxyduls nicht mehr bräunlich oder grünlich gefärbt, sondern gelblich ist. Die Siededauer ist 4 Minuten; die Beobachtung wird wiederholt. Wurden z. B. 30 ccm der Diastaselösung (0,6 g auf 300 ccm) verwendet, und wurden zur Titration von 25 ccm Fehlings Lösung, welche 0,193 g Maltose entsprechen, 16 ccm der verzuckerten Lösung verbraucht, so ergibt sich der diastatische Wert des Produkts aus folgendem: in 300 ccm sind 0,6 g Diastasepräparat, in 16 ccm daher 0,032 g enthalten. Diese entsprechen aber 25 ccm Fehlings Lösung, welche 0,193 g Maltose äquivalent sind; daher gilt die Proportion: 0,032 Diastase : 0,193 Maltose = 1 g Diastase : x Maltose, woraus x = 6,034 g Maltose. Somit entspricht 1 g des Präparates 6,034 g Maltose, und wenn man die darin bereits vorgebildete, separat zu bestimmende Maltose von diesem Werte abzieht, so ergibt sich die Maltosemenge, welche das Diastasepräparat aus der Stärke gebildet hat. Die Fehlergrenze zwischen Parallelbestimmungen ist ziemlich klein und man ist mit dieser Methode in der Lage, sich eine ziemlich genaue Vorstellung von der Wirksamkeit des betreffenden Diastasepräparates, sei es, daß man ein käufliches verwendet, sei es, daß man es aus Malzauszug selber herstellt, zu bilden.

Von oxydierenden Enzymen wollen wir nach dem Vorgange von R. Chodat unterscheiden: 1. Oxygenasen, stickstoffhaltige Körper, welche den molekularen Sauerstoff unter Peroxydbildung aufnehmen. 2. Peroxydasen, welche das Oxydationsvermögen der Peroxyde außerordentlich erhöhen (das, was man Oxydase nennt, ist als ein Gemisch von Peroxydase und Oxygenase aufzufassen). 3. Katalasen, welche Peroxyde, z. B. Wasserstoffsuperoxyd, katalytisch unter Sauerstoffentwicklung zerlegen.

Zum Oxygenasennachweis kann man sich des Jodstärkepapiers bedienen, mit dem man durch Pflanzenschnitte, die man auf das Papier abdrückt, direkt die Jodreaktion erhält, wobei man aber gleichzeitig

die Bismarckbraunreaktion anstellen muß, um die Abwesenheit von Nitriten zu konstatieren, die ja ebenfalls die Jodreaktion zeigen. Ferner kann man eine Probe mit Barytwasser anstellen, indem man beispielsweise den frisch ausgepreßten, stark oxydasehaltigen Saft von Lathraea squamaria mit einem Luftstrom unter tropfenweisem Zusatz von 1 prozentigem Barytwasser behandelt, wobei man einen Niederschlag von Bariumsuperoxyd erhält, der nach Auswaschen und Zersetzen mit verdünnter Essigsäure die Bläuung von Jodkalistärkepapier sofort und sehr intensiv liefert. Sehr gute Oxydasereaktion erhält man mit jungen Kartoffeln, welche in der Peripherie Oxydationsfermente führen. Keiner höheren Pflanze fehlt Peroxydase, während sie bei den meisten Pilzen vergeblich gesucht wird; sie ist aber in den nichtgrünen Teilen reichlicher vorhanden als in den grünen. Am besten erhält man Peroxydase aus fein zerhackten Meerrettigwurzeln, die man in zerhacktem Zustande einige Stunden sich selbst überläßt, um die Glykosidspaltung zu vollenden, und dann einige Tage mit 96 prozentigem Alkohol extrahiert, welcher die ätherischen Öle auflöst. Die rote, alkoholische Flüssigkeit wird abgegossen, der Rückstand wiederholt mit 80 prozentigem Alkohol gewaschen, abgepreßt und schließlich der Rückstand mit 40 prozentigem Alkohol versetzt und 5 Tage stehen gelassen; die abgepreßte Flüssigkeit wird hierauf filtriert und mit weniger als dem doppelten Volumen starken Alkohols versetzt, d. h. solange eine starke Trübung entsteht. Der grauweiße Niederschlag wird in wenig destilliertem Wasser gelöst, die Fällung mit starkem Alkohol wiederholt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Oder man überläßt die fein zerkleinerten Meerrettichwurzeln in einem geschlossenen Gefäß eine Stunde sich selbst und preßt dann ab; der Kuchen wird nun mit Wasser versetzt, so daß die Flüssigkeit gerade die Wurzelmasse bedeckt, und so 10—20 Stunden stehen gelassen; dann wird ein zweites Mal abgepreßt, der Rückstand nochmals mit Wasser digeriert und nach der gleichen Zeit abgepreßt. Die drei Flüssigkeiten werden miteinander gemischt und nach und nach mit starkem Alkohol versetzt, bis sich der erste Niederschlag zeigt, welcher sich leicht absetzt; dann wird mittels eines Hebers die darüberstehende Flüssigkeit abgehoben und diese nochmals mit 96 prozentigem Alkohol versetzt. Der erste Niederschlag ist sehr wenig wirksam, der zweite setzt sich langsam ab und haftet als gummiartiger Beschlag an den Wandungen des Becherglases. Die klare Flüssigkeit wird abgegossen, der weiße, gummiartige Niederschlag mit 40 prozentigem Alkohol digeriert und nochmals abgeschieden. Die Ausbeute beträgt 1—2 %; im trockenem Zustand, im Dunkeln, womöglich im Exsikkator über Schwefelsäure aufbewahrt, hält sich das Präparat jahrelang. Die durch mehrmalige Wiederholung des obigen Verfahrens von Zuckerarten und Mineralsubstanzen gereinigtem Peroxydase ist ein amorpher brauner Körper von starker Aktivität. Durch sie wird die Oxydation von Jodwasserstoff mittels Wasserstoffsuperoxyds außerordentlich beschleunigt, Hydrochinon wird zu Chinon oxydiert, Pyrogallol zu rotem, kristallisiertem Purpurogallin. Guajakol zu Tetraguajakol, Orthophenylendiamin zu Diaminophenazin kondensiert. Eines der besten Reagenzien auf Peroxydase sind nach Chodat Kresole. Mit einer verdünnten Lösung von Orthokresol gibt Peroxydase in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd eine grüne, bei konzentrierter Lösung schmutzigbraune, mit

Metakresol eine fleischfarbene, mit Parakresol eine milchigtrübe, opalisierende Reaktion. Man verwendet immer möglichst verdünnte Perhydrollösungen (hundertfünfzigstelmolar) und 1 promillige Kresollösungen, da starke Lösungen (über 0,1 % Perhydrol) schon stark lähmend auf die Fermentarbeit wirken. Bei einer Verdünnung von 1 $^0/_{00}$ ist die hellgrüne Farbe bei Orthokresol noch sehr stark, ebenso die milchweiße Trübung bei Parakresol, bei $^1/_{10\,000}$ sind beide Reaktionen noch sehr deutlich, erst gegen $^1/_{100\,000}$ liegt die Grenze der Sichtbarkeit. Die sehr empfindliche Guajakprobe ist nur bei gleichzeitig positivem Ausfall der Kresolprobe beweisend. Die verwendeten Reagenzien bei der Guajakprobe, das Harz selbst, ferner der zur Lösung verwendete Alkohol müssen peinlich peroxydfrei gehalten werden. Die Guajakprobe besteht in einer intensiven Bläuung von Guajaktinktur, einer Auflösung von Guajakharz in Alkohol; dabei ist darauf zu achten, daß die Lösung für jeden Versuch frisch bereitet werden muß und daß man nicht gepulvertes Guajakharz verwendet, sondern die von der gewöhnlich oxydierten Oberfläche befreiten größeren Stücke aufzulösen hat. Man kann sich zu Vorversuchen ein Bild von der Menge der vorhandenen Peroxydase machen, wenn man mit der Stoppuhr die Zeiten bestimmt, in welchen gerade Bläuung eintritt und diese mit der Bläuung einer beliebig verdünnten Testlösung aus Meerrettichperoxydase vergleicht. Die Aktivität der Peroxydase mißt man am besten durch die Oxydation von Pyrogallol. Es wird 1 g reines Pyrogallol in 35 ccm Wasser aufgelöst und zu je zehn solcher Lösungen wachsende Mengen von Peroxydase oder ein bestimmtes Volumen Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt, etwa in folgender Weise[1]): je 1 g Pyrogallol und Zusatz von 10 ccm 1 prozentiger H_2O_2:

Peroxydase	Purpurogallin
0,01	0,021
0,02	0,042
0,03	0,066
0,04	0,086
0,05	0,102
0,06	0,123
0,07	0,145
0,08	0,166
0,09	0,162
0,010	0,162

Die Mischung soll 50 ccm betragen; gleich nach dem Zusatz von Peroxydase bräunt sich die Flüssigkeit, bald nachher trübt sie sich, und Purpurogallin fängt an sich abzuscheiden. Man lasse die Versuchsflaschen 12 Stunden stehen, der Bodensatz wird auf gewogenem Filter abfiltriert, mit 50 ccm destillierten Wassers gewaschen, bei 100 ° getrocknet und gewogen. Oder man variiert die Quantität des Wasserstoffsuperoxyds von 1—10 ccm in 1 prozentiger Lösung und läßt die Menge der Peroxydase 0,10 g unverändert. Man erhält dann aus 1 g Pyrogallol entsprechend der Menge des zugesetzten Wasserstoffsuperoxyds: Purpurogallin 0,0205, 0,042, 0,060, 0,078, 0,099, 0,121, 0,141, 0,168, 0,168, 0,163. Die Wirkung der Peroxydase steht also in einem konstanten Verhältnis zum Wasserstoffsuperoxyd, eine Quantität *n* Peroxydase aktiviert eine Quantität *m* Wasserstoffsuperoxyd; das

[1]) Entnommen aus dem Referate von R. Chodat im III. Bande der Biochem. Arbeitsmeth. von Abderhalden.

Oxydationsprodukt Purpurogallin steht zu dem System Peroxydase-Wasserstoffsuperoxyd in direktem Verhältnis bis zu einer Grenze, über welche hinaus die Masse des Oxydationsproduktes konstant bleibt. Diese obere Grenze hängt aber auch von der Masse des vorhandenen, zu oxydierenden Stoffes ab; wenn man nämlich statt 1 g Pyrogallol 2 g nimmt, so bleibt das Verhältnis zwischen Peroxydase und Wasserstoffsuperoxyd konstant, aber die Quantität des Oxydationsproduktes steigt. Nach Bach kann man das Aktivierungsvermögen eines Peroxydasepräparates folgendermaßen definieren: Von dem im Exsikkator aufbewahrten Präparate werden zirka 0,3 g genau abgewogen und in 30 ccm Wasser gelöst; von dieser Lösung werden 5 ccm mit 20 ccm 1 prozentiger Wasserstoffsuperoxydlösung und 1,5 g Pyrogallol zusammengebracht; das entstandene Purpurogallol wird nach 12 Stunden auf ein tariertes Filter gebracht, mit 200 ccm Wasser gewaschen, bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Anderseits läßt man 10 ccm 1 prozentige Wasserstoffsuperoxydlösung mit 25 ccm der Peroxydaselösung auf 1,5 g Pyrogallol einwirken und verfährt wie früher. Ist a die mit Wasserstoffsuperoxydüberschuß angewendete Peroxydasemenge und m das entstandene Purpurogallin, b die mit Peroxydaseüberschuß angewendete Wasserstoffsuperoxydmenge und n die dabei entstehende Quantität Purpurogallin, so ist $\frac{bm}{n}$ die Wasserstoffsuperoxydmenge, die mit a Peroxydase in Reaktion trat, und $\frac{bm}{an}$ das Aktivierungsvermögen des untersuchten Peroxydasepräparates.

Viele Pflanzensäfte färben sich an der Luft, die Färbung bleibt aber aus, wenn die Säfte vorher gekocht worden waren. Die entstehenden Färbungen sind Pigmente, welche durch Oxydasen entweder direkt aus vorhandenen Chromogenen oder nach vorhergegangener Spaltung von Prochromogenen aktiviert worden sind. Rot, violett, später schwarz, färben sich von Phanerogamen die Säfte der Weizenkeimlinge, Weizenkleie, Kartoffelknollen, Äpfel, Fruchtfleisch der Nuß, viele Stengel und Blätter, z. B. die von Vicia Faba, Lathyrus niger, Silphium sp. usw., braun, dann schwarz, der Milchsaft von Rhus vernicifera und Rhus succedana, die zur Bereitung des schwarzen Lackes verwendet werden. Das betreffende Ferment ist die Lakkase, auf die wir später noch zu sprechen kommen. Die Durchforschung des äußerst komplizierten Gebietes der Atmungspigmente und ihrer Beziehungen zur Atmung der Samenpflanzen verdanken wir J. Palladin und seinen Mitarbeitern. Zum Nachweis der pflanzlichen Atmungspigmente werden größere Pflanzenstücke in kochendes Wasser geworfen; die vom Wasser gelösten Chromogene werden sodann durch Peroxydase mit Wasserstoffsuperoxyd oxydiert und liefern dabei verschieden gefärbte Pigmente. In einigen Fällen gelingt es aber nicht, die Atmungspigmente auf diese Weise nachzuweisen, nämlich dann nicht, wenn ihre inaktive Form kein Chromogen, sondern ein Prochromogen ist; in diesem Falle ist es notwendig, das Prochromogen zunächst in das Chromogen überzuführen, was durch Autolyse unter einer Glasglocke in Chloroformdämpfen nach der Methode von Molisch erreicht wird; das dabei entstehende Chromogen wird dann durch die in der Pflanze enthaltene Peroxydase zum Pigment oxydiert. Zu den Objekten, deren durch kochendes Wasser gewonnene Extrakte bei der Oxydation durch Peroxydase und Wasserstoffsuper-

oxyd direkt keine Pigmente liefern, gehören die Weizenkeime, was um so auffallender war, als diese gleichzeitig größere Mengen Peroxydase enthalten. Zum Zwecke der Spaltung des Prochromogens wird folgender Versuch angestellt: Der mit kochendem Wasser aus Weizenkeimen erhaltene Auszug wurde in drei Portionen geteilt, zur ersten wurde Peroxydase, zur zweiten Emulsin, zur dritten Emulsin + Peroxydase hinzugefügt. Am zweiten Tage bildet sich in der dritten Probe ein rotes Pigment, dessen Menge allmählich zunimmt ebenso wie seine Intensität. Ebenso wie durch Wasser wird das Prochromogen auch durch Äthyl- und Methylalkohol aus den Keimlingen ausgezogen und kann im Extrakt durch Azeton gefällt werden; wird die wässerige Lösung mit einer Schicht Olivenöl bedeckt, so findet keine Pigmentbildung statt, diese ist also an die Absorption des Luftsauerstoffs gebunden. Ebenso wie Emulsin bildet auch Takadiastase, nicht aber Pepsin ein durch Peroxydase oxydierbares Chromogen. Die Autoxydation und Bildung des Pigmentes wird durch ein alkalisches Medium begünstigt, das bisweilen für diesen Prozeß ganz unerläßlich erscheint. Deshalb werden auf 100 ccm Chromogenlösung 5 ccm oder mehr einer 50 prozentigen Kalilauge oder 100 ccm einer gesättigten Lösung von Barytwasser hinzugefügt. Die Lösungen werden in einen flachen Glaskolben mit breitem Boden gegossen, der ein Volumen von zirka 420 ccm besitzt und dessen Öffnung mit einem doppeltgebohrten Gummistöpsel verschlossen ist. In der einen Öffnung steckt ein kurzes Glasrohr mit Hahn, in der anderen ein enges, zweimal gebogenes Rohr, dessen mittlerer horizontaler Teil von 50 cm Länge mit einer Millimeterskala versehen ist. Das äußere, nach unten eingebogene Ende dieser Röhre wird in ein Gefäß mit gefärbtem Wasser versenkt. Die Sauerstoffabsorption im Innern des Kolbens ist von einer Fortbewegung des gefärbten Wassers in dem horizontalen Abschnitte des langen Rohres begleitet. Es ist noch besser, dem horizontalen Rohre eine kaum merkliche Neigung in der Richtung nach dem Gefäß mit der Flüssigkeit zu geben, weil dann das Wasser, nachdem das Röhrchen sich mit gefärbtem Wasser angefüllt hat, nach Öffnen des Hahnes wieder in das Gefäß zurückfließt, um nach Schließen des Hahnes wieder in dem Röhrchen aufzusteigen. Um die Sauerstoffabsorption zu beschleunigen, wird der Kolben mit der Flüssigkeit geschüttelt. Das mit Holzgeist aus alten etiolierten Bohnenstengeln ausgezogene, mit Azeton gereinigte Atmungspigment ergibt mit Eisenchlorür eine prächtige, intensiv grüne, nach Hinzufügung von Natriumbikarbonat in Violett und Lila übergehende Färbung, mit essigsaurem Blei einen weißen Niederschlag und scheint demnach der Reihe der ortho-disubstituierten Benzolderivate anzugehören. Nur für wenige Pflanzen läßt sich der Nachweis des Chromogens direkt dadurch erbringen, daß der ausgepreßte Saft sich bei Luftzutritt oxydiert und ein Pigment bildet wie bei der weißen Zuckerrübe, Kartoffelknollen, Keimlingen von Vicia Faba. Hier pigmentiert sich stets nur die obere Schicht des Extraktes, wo Sauerstoff Zutritt hat; durch Umrühren wird die Färbung zum Verschwinden gebracht, ein Beweis, daß der Saft reduzierende Elemente enthält. Die Reduktion kann auch durch Zufügen von Schwefelammonium Zinnchlorür oder anderen Reduktionsmitteln hervorgerufen werden. Bei anderen Pflanzen, z. B. Weizenkeimen, kann das Chromogen, wie erwähnt, erst nach erfolgter Autolyse unter sterilen Verhältnissen (Zugabe von Toluol) nachgewiesen werden. Die zu untersuchenden Pflanzenteile

werden zerkleinert, mit Wasser ausgekocht, man erhält so, da die Oxydase durch das Kochen zerstört worden ist, eine mehr oder weniger farblose Chromogenlösung. Man setzt dann eine geringe Menge der aus Meerrettich dargestellten Peroxydase und ein paar Tropfen 0,5 bis 1 prozentiger Wasserstoffsuperoxydlösung zu, die zuerst erscheinende rote Färbung geht schnell in eine dunkelbraune über; seltener beobachtet man eine lilaviolette Färbung, die dann ebenfalls über rot in dunkelbraun übergeht. Durch Zusatz von 1—3 Tropfen verdünnter Essigsäure wird das Erscheinen der Rotfärbung befördert, ein Überschuß der Säure dagegen wirkt schädlich, Zusatz von Soda beschleunigt die Reaktion. Viel Pigment, zunächst violett, dann rot bis braun, führen Biota orientalis und Thuja occidentalis unter den Gymnospermen, während Abies und Araucaria wenig enthalten, unter den Monokotylen Allium Cepa wenig. Der Saft von Aloe soccotrina nimmt beim Kochen rote Färbung an, in Gegenwart von Peroxydase und Wasserstoffsuperoxyd färbt er sich intensiv dunkelrot. Molisch wies nach, daß sich der Saft in Äther oder Chloroformdampf durch Oxydation des Aloins rot färbt, und gegenwärtig wird Aloin auch als Reagens auf Peroxydase verwendet. Unter den Dikotylen enthält Helleborus viridis in jungen Stengeln und Blüten, der Apfel, junge Stengel von Rheum palmatum, junge Blätter von Rumex Patientia viel Pigment, Brassica oleracea wenig. Besonders interessant verhält sich Schenckia Blumenaviana, von welcher Molisch zeigte, daß sie bei Autolyse in Chloroformdampf eine hochrote Färbung annimmt. Das nach dem Kochen erhaltene Filtrat ist zwar farblos, hat aber eine schöne hellblaue Fluoreszenz. Bei Cortex Chinae ruber färbt sich das farblose Filtrat nach Zusatz von Peroxydase und Wasserstoffsuperoxyd intensiv rot, nach dem Stehen bildet sich eine beträchtliche Menge eines ziegelroten Niederschlags, aber auch bei Zusatz von Peroxydase allein, ohne Wasserstoffsuperoxyd, erfolgt hier die Färbung; bei Herba Ephedrae ist das Pigment schon rotviolett. Für Vorlesungsversuche empfehlen sich nach Palladin besonders Keimlinge von Vicia Faba, grüne, oberirdische Rhizome von Polypodium nervifolium und P. leiorhizon, Radix filicis maris, Zweige von Biota orientalis oder von Thuja occidentalis und Cortex Chinae ruber. Diese Objekte liefern nach dem Kochen mit Wasser schwachgefärbte Filtrate, die sich auf Zusatz von Peroxydase und Wasserstoffsuperoxyd schnell (mit Ausnahme von Vicia Faba) violett oder rot färben. Für die Pigmentbildung nach ein- bis zweitägigem Verweilen im Chloroformdampf eignet sich besonders Aloe soccotrina und Schenckia Blumenaviana. Bei Cichorum Intybus beobachtete ich bei Autolyse eine schöne rotviolette Färbung. Weizenkeime erzeugen ein schönes Pigment nach 10—15 tägiger Autolyse bei Luftabschluß; das farblose Filtrat nimmt bei Filtration unter Luftzutritt hochrote Färbung an. Nur im Spargel wurde bisher kein Atmungspigment entdeckt. Wenn man eine Blumenzwiebel oder sonst ein Organ von Amaryllis vittata in Stücke zerschneidet und liegen läßt, so trocknen sie aus, ohne auch nur eine Spur von Pigment zu bilden; wenn man dagegen die in kleine Stücke zerschnittene Zwiebel auf 1—2 Stunden in Wasser legt und dann bei reichlichem Luftzutritt in eine feuchte Atmosphäre bringt, so beginnen die Wundstellen sich mit zunehmender Intensität zu pigmentieren; die Färbung wird schließlich scharlach- oder zinnoberrot. In ruhenden oder im Beginn des Keimens begriffenen Zwiebeln entsteht mehr Pigment als in Zwiebeln während der Blüte.

Kratzt man auf einem Stück Zwiebel mit einem spitzen Messer irgendein Wort oder dergleichen ein und bringt das Stück nach Verweilen in einer wässerigen Emulsinlösung in eine feuchte Atmosphäre, so treten die eingegrabenen Zeichen nach kurzer Zeit rot auf weißem Grunde hervor. Man kann diese Schicht konstant erhalten, wenn man das Stück in konzentriertes Glyzerin einlegt, welches dem Objekte Wasser entzieht, und nach Auspressen des Glyzerins zwischen Filtrierpapier das Objekt in Benzin einlegt. Die Bildung des Farbstoffes erfolgt unter Beteiligung der lebenden Zellen: Zwiebeln, welche im Mörser zerrieben, eingefroren oder mit Toluol oder Blausäure getötet oder in verdünnter Lösung von salzsaurem Chinin eingeweicht waren, bilden in der Autolyse kein Pigment. Der Farbstoff von Amaryllis vittata ist in Chloroform löslich und kann aus diesem als amorphe Masse gewonnen werden.

Zur Darstellung der L a k k a s e geht man vom Milchsaft von Rhus vernicifera oder Rhus succedanea aus, dem das vier- bis fünffache Volumen starken Alkohols zugesetzt wird, worauf ein Niederschlag entsteht, der abkoliert und mit starkem Alkohol so lange gewaschen wird, bis sich die abfließende Flüssigkeit mit Wasser nicht mehr trübt; die Fällung wird mit kaltem Wasser ausgelaugt und löst sich bis auf einen kleinen Rückstand, der abfiltriert wird. Die Flüssigkeit wird in dem zehnfachen Volumen Alkohol aufgefangen und der entstandene Niederschlag von der Flüssigkeit getrennt, gesammelt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ihre Oxydationskraft kann gravimetrisch durch die Menge des ausgeschiedenen Purpurogallins und volumetrisch durch Messung des Volumens Sauerstoff bestimmt werden, der in der Zeiteinheit und in Gegenwart einer bestimmten Menge des zu oxydierenden Körpers aufgenommen wird. Für die gravimetrische Bestimmung werden nach C h o d a t vier Erlenmeyerkolben mit je 1 g Pyrogallol und wachsenden Mengen Lakkaselösung beschickt. Die Lakkaselösung variiert von 10 bis 40 ccm um je 10 ccm, wobei immer die auf 40 ccm fehlende Menge Wassers zugesetzt wird. Nach 24—48 Stunden wird, wie bereits geschildert, die Menge der bereits gebildeten Purpurogallins bestimmt; ist a dessen Quantität bei der Konzentration 1, ferner x die betreffende Konzentration der Lakkaselösung und b eine Konstante, so läßt sich der Wirkungswert der Lakkase nach der Gleichung $ax + b$ bestimmen. Ebensowohl läßt sich statt Pyrogallol auch p-Kresol verwenden. Nach der volumetrischen Methode werden zu 10—40 ccm der Fermentlösung 50 ccm Wasser gegeben und je 1 g Pyrogallol hinzugefügt. Die Mischung wird mit einem Eudiometer in Verbindung gesetzt und sowohl der aufgenommene Sauerstoff als die abgegebene Kohlensäure bestimmt. Als Behälter benutzt man eine mit Glashähnen versehene zugeschmolzene Glasflasche bekannten Inhaltes, die nach Füllen mit kohlensäurefreier Luft durch ein bis auf den Boden reichendes Zuleitungsrohr mit den Reagentien beschickt und mit einem Meßapparat verbunden wird, der ebenfalls kohlensäurefreie Luft enthält. Der Apparat besteht aus einem graduierten Meßrohr und einem Niveauhalter und ist mit Quecksilber beschickt. Nach Ablauf des Versuches wird das absorbierte Sauerstoffvolumen unter Berücksichtigung von Temperatur und Barometerstand bestimmt und das Gas durch Heben des Niveaurohres in den Behälter übergeführt, wo man die vorhandene Kohlensäure gravimetrisch mißt. Lakkase oxydiert Guajakemulsion direkt an der Luft und übt auch sonst dieselben Wirkungen aus wie das System Oxygenase-

Peroxydase. Die Lakkase ist meistens mit Tyrosinase vereinigt, von der sie sich durch Erwärmen auf 60—65 ^{0} trennen läßt. Um die Reinheit des Lakkasepräparates zu prüfen, setzt man zu einer 0,5—1 prozentigen *p*-Kresollösung einige Kubikzentimeter der Lakkaselösung und verteilt die Mischung in vier Eprouvetten. *A* enthält die genannte Mischung, *B* dieselbe mit Zusatz einer Spur Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion, *C* ist mit ganz wenig Sodalösung alkalisch gemacht, *D* mit Spuren von Glykokoll alkalisch. Ist nur Lakkase, aber keine Spur Tyrosinase zugegen, so wird *A* milchigweiß, *B* ebenfalls mit stärkerer Trübung, *C* und *D* reagieren viel schwächer. Ist Tyrosinase zugegen, so färben sich *C* und *D* gelb, respektive rot.

Von Tyrosinase rührt die Schwarzfärbung der Säfte von Kartoffel, Vicia Faba usw. her. Setzt man von solchen Säften etwas zu einer 1 promilligen bis 1 prozentigen *p*-Kresollösung zu, nachdem man den Saft durch Sodazusatz ganz schwach alkalisch gemacht hat, so geht die farblose Lösung in Gelb, Orangegelb und schließlich in Rot über, bei anfänglichem Zusatz von einer Spur Glykokoll tritt sofort Rotfärbung auf. Zur Darstellung kann man von Kartoffelschalen ausgehen, von denen einige Kilo nach Befeuchten mit Alkohol mittels einer Hackmaschine zu einem dicken Brei zerrieben und so rasch als möglich abgepreßt werden. Man läßt den bräunlich gefärbten Saft direkt in ein Glasgefäß fließen, das zur Hälfte mit starkem Alkohol gefüllt ist. Den voluminösen Niederschlag läßt man absetzen, die klare alkoholische Flüssigkeit wird mittels eines Hebers entfernt, der Bodensatz auf ein Filter gebracht und noch feucht mit der nötigen Menge destillierten Wassers unter Zusatz von Toluol einen Tag stehen gelassen; hierauf wird filtriert und die klare Flüssigkeit mit starkem Alkohol versetzt, der Niederschlag, der sich zu Boden setzt, durch Dekantieren von der Flüssigkeit befreit, der Rückstand auf ein kleines Faltenfilter gebracht, mit Alkohol gewaschen und noch feucht auf porösen Tontellern über Schwefelsäure im Vakuum rasch getrocknet. Dieser trockene Rückstand löst sich vollkommen in Wasser, oxydiert sich nicht an der Luft, enthält keine Lakkase, bläut also Guajakemulsion nicht, wohl aber Peroxydase, da er Guajak auf Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd sofort bläut. Wässerige Lösungen von Tyrosinase halten sich selbst bei Zusatz von Toluol nur einige Tage mit unveränderter Wirksamkeit.

Die Messung der oxydativen Kraft der Tyrosinase geschieht nach Bach[1]) folgendermaßen: In eine Reihe von acht Bechergläsern gibt man je 10 ccm 0,05 prozentiger Tyrosinlösung und 0,04 % Natriumkarbonat hinzu, ferner je steigende Mengen Fermentlösung und Wasser bis zu 50 ccm. Die Reaktionsgemische werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit je 1 ccm 10 prozentiger Schwefelsäure angesäuert und mit $\frac{n}{500}$ Permanganatlösung bis zur Entfärbung titriert; gleichzeitig wird in einer zweiten Reihe von Gläsern die Wirkung nach 48 Stunden bestimmt.

Fermentkonzentration	0,5	1,0	1,5	2,0	5,0	10,0	15,0	20,0
A 24 Stunden	10,8	14,2	17,3	19,8	25,7	30,4	33,6	35,8
B 48 Stunden	13,2	16,0	17,8	20,4	25,6	31,2	34,4	35,4

[1]) A. Bach, Über die Wirkung der Tyrosinase Ber. d. d. chem. Ges. **41**, 221 (1908).

Aus diesen Zahlen läßt sich eine logarithmische Kurve konstruieren, die Menge des Reaktionsproduktes steigt proportional mit der Fermentmenge, wenn auch langsamer als letztere. Die Reaktion kommt um so schneller zustande, je größer die Fermentkonzentration ist. Nach Chodat und Staub bestimmt man die Wirkungsweise kolorimetrisch. Es werden 0,5 g Bismarckbraun, 0,5 g Korallin in 250 ccm absoluten Alkohols gelöst (*P*). Da bei dieser Methode die Rötung der Tyrosinlösung bestimmt werden muß und es sich gezeigt hat, daß andere Farbennuancen am Anfang und später zu beobachten sind, haben die genannten Autoren zwei Skalen hergestellt:

I. Skala für Spätreaktionen.

Von der alkoholischen Farbstofflösung P: ccm	1	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
Absoluter Alkohol „	9	18,5	17,0	17,5	17,0	16,5	16,0	15,5	15,0

II. Skala für Anfangsreaktionen:

Von der alkoholischen Farbstofflösung P: ccm	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Absoluter Alkohol . . . . „	19,9	19,8	19,7	19,6	19,5

Die Lakkasewirkung kann durch die eines Systems Peroxydase-Wasserstoffsuperoxyd ersetzt werden, nicht aber Tyrosinase; wohl aber kann man aus der Wurzel von Vicia Faba und aus dem Stengel von Philodendron monsteroides eine Peroxydase extrahieren, die in Verbindung mit Wasserstoffsuperoxyd die charakteristische Rötung des Tyrosins und die Tyrosinasereaktion auf Parakresol liefert.

Katalase: Zum Nachweis dieses in allen Pflanzengeweben vorhandenen Fermentes kann man nach Chodat folgendermaßen vorgehen: Ein Elodeablatt wird in 5 prozentige Salpeterlösung gebracht, der 1 % H_2O_2 zugesetzt worden ist; unter dem Mikroskop sieht man, wie aus den Zellen, deren Protoplasma sich im Innern der Zelle zu einer Kugel zusammengeballt hat, Gasblasen strömen, bisweilen kann diese Gasausscheidung, noch während das Protoplasma strömt, stattfinden. Die Katalase zersetzt Wasserstoffsuperoxyd unter Entwicklung von molekularem Sauerstoff, während andere Peroxyde nicht angegriffen werden; ihre Wirkung, die keine oxydierende ist, ist in erster Annäherung proportional der Konzentration des Wasserstoffsuperoxyds, insofern die Konzentration desselben zwischen $\frac{m}{300}$ und $\frac{m}{1000}$ variiert. Die Reaktion verläuft dagegen in stärkeren Lösungen relativ langsamer; die Konstanten der Reaktionsgeschwindigkeit sind nach Senter:

Konzentration des H_2O_2				
	$^1/_{290}$	molar	Konstante	0,0120
	$^1/_{1100}$	„	„	0,0122
	$^1/_{126}$	„	„	0,175
	$^1/_{460}$	„	„	0,188
	$^1/_{106}$	„	„	0,192
	$^1/_{440}$	„	„	0,225

Einen wesentlichen Einfluß neben der Wasserstoffsuperoxyd-Konzentration spielt auch die Temperatur; zwischen 0—10° ist die zerstörende Wirkung einer mäßig konzentrierten Peroxydlösung auf das Enzym sehr schwach.

Die Wirkung der Katalase kann quantitativ durch Bestimmung des Wasserstoffsuperoxyds ermittelt werden, welches von einer gewissen, genau eingestellten Menge desselben nach der eine bestimmte

Zeit hindurch andauernden perhydrolzerstörenden Wirkung des Enzyms zurückgeblieben war. Die Bestimmung des nach unterbrochener Katalasearbeit zurückgebliebenen Wasserstoffsuperoxyds kann z. B. mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung vorgenommen werden. Ich zitiere diese Bestimmung nach den Angaben von Grafe und Linsbauer: Der in der Achatreibschale ohne Zusatz eines zerreibenden Mediums bereitete Organbrei wurde mit einer bestimmten Menge Chloroformwassers vermischt, über ein möglichst kleines Filter in eine Schüttelflasche filtriert und über dasselbe Filter die abpipettierte Menge Wasserstoffsuperoxyd gegossen. Das verwendete Wasserstoffsuperoxyd war auf $\frac{m}{50}$ eingestellt und aus reinem Merckschen Perhydrol durch Verdünnung hergestellt. Nach einer bestimmten Zeit wurde im Filtrat die Arbeit der Katalase durch Zugabe einer bestimmten Menge konzentrierter Schwefelsäure unterbrochen und darauf sofort die Titration vorgenommen. Je nach Bedarf wurde auch das Filtrat in aliquote Teile geteilt und diese in bestimmten Zeitintervallen titriert, um die Wirkungsweise des Fermentes durch eine längere Zeitperiode hindurch verfolgen zu können. Die Permanganatlösung wurde mit reiner Oxalsäure in der gewöhnlichen Weise eingestellt, in der Stärke $\frac{m}{500}$ verwendet und beide Lösungen in angemessenen Intervallen gegeneinander nachgeprüft. Der erste Tropfen, welcher etwa eine halbe Minute bleibende Rosafärbung in der titrierten Lösung verursachte, wurde als Kriterium für Beendigung der Titration genommen. Diesem Verfahren haften insofern Ungenauigkeiten an, als einerseits der Pflanzenpreßsaft von vornherein nicht farblos, sondern mehr oder weniger gelblich erhalten wird, anderseits die anfängliche Rosafärbung nach scheinbarer Beendigung der Titration bei energischem Umschütteln verschwindet, nachdem sie mehrere Sekunden angehalten hat, da ja die zahlreichen organischen Komponenten des Saftes die Maßflüssigkeit erst nach und nach reduzieren, so daß bisweilen eine wirklich bleibende Rosafärbung erst nach mehreren Stunden Schüttelns und Weitertitrierens erhalten wird. Es müßte also auf den ersten sichtbaren, durch ganz bestimmte Zeit bleibenden Umschlag gearbeitet werden.

Diese Unsicherheit ist durch Verwendung der von A. Jolles vorgeschlagenen Jodaklimethode zum Teil vermieden. Das Wasserstoffsuperoxyd vermag aus Jodkalilösungen in salzsaurer Lösung die äquivalente Menge Jod frei zu machen, welches dann mit Natriumthiosulfat unter Verwendung von Stärkekleister als Indikator zurücktitriert werden kann. Zu dem mit Chloroformwasser filtrierten Preßsaft, in welchem die Katalase eine bestimmte Zeit auf die zugefügte Perhydrolmenge gewirkt hatte, wurde zur Beendigung der Reaktion konzentrierte Salzsäure, hierauf 10 ccm einer 10 prozentigen, jederzeit frisch bereiteten Jodkalilösung hinzugegeben und das ausgeschiedene Jod mit Thiosulfatlösung titriert. Die letztere war in üblicher Weise mit Kalibijodat so eingestellt, daß 10 ccm der verwendeten Wasserstoffsuperoxydlösung ungefähr so viel Jod aus einer 10 prozentigen Jodkalilösung in Freiheit setzten, daß von demselben etwa 15 ccm verbraucht wurden, und wurde von Zeit zu Zeit kontrolliert. Die verwendeten Büretten waren eng und gestatteten die Ablesung von $^1/_{20}$ ccm. Die verwendeten Keimlinge

wurden im Glashause unter Deckelsturz aufgezogen und alle notwendigen Operationen bis zur Titration in der Dunkelkammer ausgeführt. Die Pflanzenteile wurden in einer kleinen Achatreibschale mit Chloroformwasser zerrieben und mit einer entsprechenden Menge der Perhydrollösung über ein kleines Filter in eine Schüttelflasche filtriert. Nach einer bestimmten Zeit wurde die Katalasearbeit durch Eingießen von 10 ccm konzentrierter Salzsäure zum Stillstande gebracht, 10 ccm der Jodkalilösung hinzugefügt und nach einer Minute fortgesetzten Umschüttelns titriert. Das sofortige Titrieren hatte sich als notwendig erwiesen, da wir beobachten konnten, daß der gelbe Farbenton der Probe mit der Zeit nachdunkelte, also offenbar neben der Katalase, welche ja durch die Salzsäure in ihrer Tätigkeit unterbunden war, noch Stoffe im Extrakt der Reibmasse vorhanden sein mußten, welche diese sukzessive Jodausscheidung bewirken.

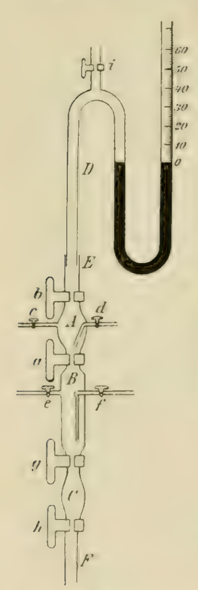


Fig. 75. Liebermanns Apparat.

Man kann die Stärke einer Katalaselösung genauer durch Messung des entwickelten Sauerstoffs bestimmen. In ein mit Mohrscher Bürette versehenes Gefäß mit doppelten Hähnen und Röhren gießt man 5 bis 10 ccm der Katalaselösung; dann läßt man durch Öffnen eines Hahnes 30 ccm einer 1 prozentigen Wasserstoffsuperoxydlösung zufließen. Die sich entwickelnde Sauerstoffmenge wird mittels Eudiometers nach 1, 2, 5, 10 Minuten gemessen. Ist die bestimmte Zeit verflossen, so wird der zum Eudiometer führende Hahn geschlossen und durch Senken der Quecksilberkugel das Niveau äquilibriert. Der hier gut verwendbare Apparat von Liebermann[1]) hat folgende Einrichtung (Fig. 75): In die Abteilung *A* (Fassungsraum zirka 25 ccm) kommen mit Hilfe einer Pipette nach Entfernung des bei *E* eingeschliffenen Manometerrohres *D* und bei geschlossenen Hähnen *a*, *c* und *d* 5 ccm einer verdünnten Fermentlösung; hierauf wird der Hahn auch bei *b* geschlossen und der Apparat umgekehrt. Dann werden bei geschlossenen Hähnen *c* und *f* bei *F* 5 ccm einer 1 prozentigen Wasserstoffsuperoxydlösung in die Abteilung *B* gebracht (Fassungsraum zirka 25 ccm), worauf Hahn *g* geschlossen wird. In die Abteilung *C* (Fassungsraum zirka 25 ccm) kommen nun 5 ccm einer gesättigten Kochsalzlösung, worauf auch Hahn *h* geschlossen, der Apparat wieder umgekehrt und auf passende Art in ein Stativ geklemmt wird. Nun wird das sowohl nach aufwärts wie nach abwärts von Null in Millimeter geteilte, bis Null mit Quecksilber gefüllte Manometerrohr *D* aufgesetzt. Die Hähne *i* und *b* werden zum Druckausgleich geöffnet, dann wird *i* wieder geschlossen; die Hähne *b*, *a*, *g* und *h* sind mit 1 cm weiten Bohrungen versehen, um den Flüssigkeiten raschen Durchfluß zu gestatten. Das Manometerrohr ist, soweit die Millimeterteilung (100 mm nach auf- und abwärts) reicht, genau kalibriert, so daß das Volumen in Kubikzentimetern für jeden Millimeter aus der Kalibrierungstabelle abgelesen werden kann. Mischen sich die beiden Flüssigkeiten bei geöffnetem Hahn *a* in der Abteilung *B* und findet

[1]) L. Liebermann, Beiträge zur Kenntnis der Fermentwirkungen, Pflügers Archiv **104**, 179 (1904).

Gasentwicklung statt, so steigt das Quecksilber im Manometer, und es kann nun für jede beliebige Zeitdauer des Versuches das Volumen des entwickelten Gases bestimmt werden, wenn man es auf gleiche Temperatur und gleichen Druck reduziert. Die Abteilung *C* dient dazu, einer Übersättigung mit Gas vorzubeugen, und wird mit gesättigter Kochsalzlösung beschickt. Durch Öffnen von *g* wird die Flüssigkeit aus *B* hereinfließen gelassen, wodurch eine vollkommenere Mischung und ein Entfernen der an den Wänden haftenden Gasblasen bewirkt wird. Aber die volumetrische Methode hat den Nachteil, eine Übersättigung mit Sauerstoff zu bewirken, da das Gefäß nicht geschüttelt werden kann, ohne durch den Einfluß der Gefäßwandungen einen unberechenbaren Faktor in die Versuchsmethodik einzubringen. So kann man auch hier keine absoluten, sondern nur Vergleichswerte erhalten. Bessere Erfolge erzielt man nach Chodat mit der Titration durch verdünnte Kaliumpermanganatlösung, aber auch nur dann, wenn man die Katalase selbst darstellt, z. B. durch Extraktion von Tabakblättern mit chloroformhaltigem Wasser und Fällen durch Zusatz von überschüssigem Ammoniumsulfat; der Niederschlag wird von der darüberstehenden Flüssigkeit abfiltriert und durch Dialyse von dem vorhandenen Ammoniumsulfat befreit; er erweist sich nach O. Loew als stark katalasehaltig. Solche Katalasepräparate enthalten in ihrer verdünnten Lösung nur so geringe Spuren organischer Substanz, daß sich ihre katalytische Kraft durch Titration mit $\frac{m}{500}$ $KMnO_4$-Lösung messen läßt, da die Reaktionsgeschwindigkeiten der Zerlegung von sehr verdünnten $\left(\frac{m}{480}\right)$ Lösungen von Wasserstoffsuperoxyd der Fermentkonzentration nach Senter proportional ist. Zur Probe müssen die verwendeten 100—400 ccm der Fermentlösung in großen (Liter) Flaschen mit Glasstöpsel einige Stunden in schmelzendem Eis vorgekühlt und darauf 100—400 ccm vorgekühlte Wasserstoffsuperoxydlösung dazugegossen werden. Von der peinlich auf 0^0 gehaltenen Flüssigkeit werden zeitweise je 25—100 ccm zur Probe entnommen, zur Unterbrechung der Reaktion in verdünnte Schwefelsäure gegossen und darauf mit der $\frac{m}{500}$ Permanganatlösung titriert. Ich habe schon darauf hingewiesen, daß man sich von der viel langsamer als das Peroxyd auf Permanganat wirkenden organischen Substanz des Zellsaftes emanzipieren kann, wenn man nicht die dauernde, sondern die eine halbe Minute beständige Rosafärbung als Ende der Reaktion betrachtet.

Die kolorimetrischen Methoden, z. B. Intensität der Bläuung von Guajakemulsion, wie sie bisweilen zur Messung der katalytischen Kraft bei Peroxydasen verwendet werden, sind höchst unzuverlässig. Vor allem muß die Intensität der Färbung durchaus nicht der Intensität in der Oxydation der farblosen Verbindung parallel gehen, so nimmt z. B. Guajakharz bei der Oxydation eine blaue Färbung an, die aber bei weitergehender Oxydation von einem gewissen Punkt an wieder abnimmt; die Färbungen der einzelnen Substanzen, wie Guajak, Kresol usw., sind in ihrer Intensität nicht untereinander vergleichbar, ferner sind die Pflanzensäfte nur selten klar und farblos, meistens trüb und mißfarbig, so daß die oxydierende Fällung nicht gleichmäßig vor sich

geht und die Färbung nicht deutlich zu erkennen ist. Der Vergleich mit künstlich hergestellten, von Suspensionen freien Farblösungen ist aber höchst unexakt. Was also ein Postulat für solche Bestimmungen wäre, ist eine Methode, welche mit frischen Säften, wie sie aus den Pflanzengeweben eben bereitet werden, zu arbeiten gestattet und bei welchen die Genauigkeit auch mit größeren Extraktmengen hinlänglich ist. Die von Bach und Chodat beschriebene, auf der Wägung des entstandenen Purpurogallins basierende Arbeitsweise ist wohl verläßlich, aber etwas langwierig; nach Foà ist die befriedigendste Methode der Messung der Reaktionen, welche Absorption von Sauerstoff bewirken, die, in welcher die Menge des absorbierten Sauerstoffs durch Messung der Druckänderung im Reaktionsgefäß bestimmt wird. Da die Oxydasen katalytisch wirken, d. h. eine Reaktion beschleunigen, ohne selbst dabei verbraucht zu werden und dabei eine in keinem Verhältnis zu ihrer Menge stehende Stoffquantität umsetzen, kann man bei ihnen am besten den Grad messen, in welchem sie gewisse Oxydationen beschleunigen, um ihre Wirkungsintensität kennen zu lernen. H. Bunzel[1]) hat eine solche Methode ausgearbeitet, in welcher die Arbeit des Enzyms unter sorgfältig konstant gehaltenen Außenbedingungen vor sich geht, und bei welcher die Menge des absorbierten Sauerstoffs gemessen wird; immerhin mußte zunächst, da die Peroxydase nicht beliebige, sondern in bestimmter Quantität nur ganz bestimmte und nicht allzugroße Mengen Pyrogallol oxydiert, die Beziehungen zwischen Stärke des Oxydasepräparates, dem Betrage der Sauerstoffabsorption und der Art und Weise derselben festgestellt werden. Bei einer solchen Manometermethode muß natürlich die Temperatur vollkommen konstant gehalten werden, d. h. sie darf nicht um mehr als um Zehntelgrade schwanken, und diese Bedingungen müssen schon eine Zeitlang vor Beginn des Versuches herrschen und zwar sowohl wegen des Verlaufes der Enzymarbeit selbst als wegen der Manometerablesung, die Manometerschwankungen dürfen nur durch den absorbierten Sauerstoff, nicht aber durch die Differenzen zwischen diesem und der ausgegebenen Kohlensäure hervorgerufen sein, die Kohlensäure muß also sofort aus dem Reaktionsraume entfernt werden, und ihr Betrag ist zu messen, da er auch Anhaltspunkte für die Aufnahme von Sauerstoff geben kann.

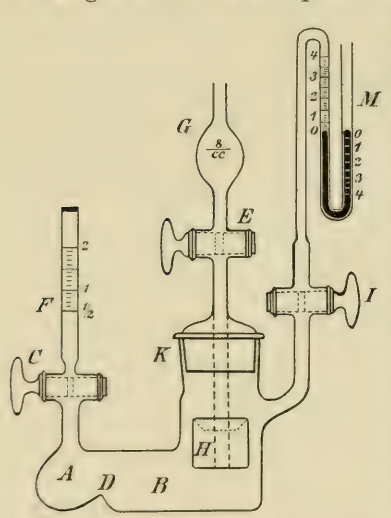


Fig. 76. Bunzels Peroxydaseapparat.

Diesen Forderungen entspricht der von Bunzel konstruierte und mit besonderen elektrischen, der Heizung, der Luftbewegung und der Kühlung dienenden Vorrichtungen versehene Thermostat. Indem bezüglich dieser Einzelheiten auf die Originalabhandlung verwiesen sein mag, soll hier nur der Peroxydaseapparat und die Methode beschrieben werden. Der Apparat (Fig. 76) besitzt einen Fassungsraum von 150 ccm.

[1]) H. Bunzel, The measurement of the oxidase content of plant juices. U. S. Department of Agriculture Bull. No. 238 (1912).

Die Einschnürung bei D teilt den unteren Teil in zwei Räume, A und B. In den Raum A kann aus der 2-ccm-Bürette F vermittels des Hahnes C Flüssigkeit eingefüllt werden. Der Raum B kann aus der Birne G, mit einem Inhalt von 8 ccm durch den Hahn und die Röhre E oder durch Abheben des eingeriebenen Teiles bei K gefüllt werden. Die Röhre trägt ein kleines, etwa 10 ccm fassendes Glaskörbchen H, welches einen ausgebauchten Rand besitzt, damit beim Schütteln keine Flüssigkeit herausspritzen kann; es ist auch hinlänglich weit vom Boden des Gefäßes entfernt, daß kein Wasser hineingelangen kann. Diese Vorsicht ist sehr wesentlich, da eine durch Mischung von Pyrogallol und Alkali hervorgerufene Sauerstoffabsorption die Manometerablesung unzuverlässig machte. Das Manometer M ist in Millimeter eingeteilt; durch Schließen des Hahnes J kann es außer Verbindung mit dem Apparat gesetzt werden. Dieser Apparat ist standfest geblasen. Um den Inhalt des Körbchens zu titrieren, wurde ein Titrationsgefäß (Fig. 77) benützt, in welchem alle Titrationen in einer kohlensäurefreien Atmosphäre ausgeführt wurden, zu welchem Zweck der Boden des Gefäßes mit einer 30prozentigen Kalilauge bedeckt war. Der den Korb tragende Schliff wird durch den breiten Kautschukstöpsel R ersetzt. Die in Zehntel geteilte Bürette B kann in den Schliff bei G eingesetzt werden, so daß ihre Mündung sich gerade oberhalb des Körbchens befindet. Die kleine Birne C ist durch einen Schliff mit der Bürette verbunden und mit einem Wattestöpsel zur Abhaltung von Verunreinigungen versehen. Als Peroxydase wurde die aus Kartoffelschalenpreßsaft und als oxydable Substanz Pyrogallol verwendet. Nachdem der Oxydaseapparat im Thermostaten aufgestellt ist, werden 8 ccm 0,1—1 prozentiger Pyrogallollösung in die Abteilung B aus der Birne G gebracht. 2 ccm des Pflanzensaftes werden aus der Bürette F in die Abteilung A abgemessen. Das Körbchen H wird mit 1 ccm n-Natronlauge beschickt. Der Hahn E am Oxydaseapparat wird geschlossen, während C und J geöffnet sind. Der Thermostat wird geschlossen und die Schüttelmaschine, welche den Oxydaseapparat sanft rüttelt, in Bewegung gesetzt, worauf die Reaktion gleich einsetzt. Nach 10 bis 20 Minuten langem Schütteln wird immer behufs Manometerablesung das Schütteln unterbrochen, und die Reaktion wird so lange vor sich gehen gelassen, bis kein Sauerstoff mehr absorbiert wird, was beiläufig zwei Stunden dauert. Nun wird der Behälter geöffnet, der Oxydaseapparat aus den Klammern, die ihn während des Schüttelns festgehalten hatten, befreit und die Hähne C und E geöffnet. Der innere Teil des eingeschliffenen Satzes mit dem Körbchen wird sorgfältig herausgenommen, das Glaskörbchen wird rasch an der Außenseite abgetrocknet, 2 Tropfen Phenolphthalein zu der Lauge hineingegeben und dann der Korb sofort in den weiten Hals des Titrierapparates befestigt. Die Bürette wird mit $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure gefüllt und die Flüssigkeit im Körbchen

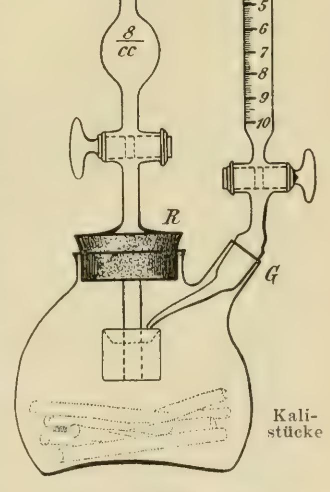


Fig. 77. Titrationsapparat.

Reagens	Leim- u. Eiweiß	$FeCl_3$	Blei-azetat	KOH	Ammoniak	Baryt-wasser	Kalk-wasser
Gallussäure . .	keine Fällung	blau	Fällung	—	—	gelbe Fällung	—
a-Digallussäure .	Fällung	blau	Fällung	—	—	hellblaue Fällung	—
Tannin .	Fällung	blaugrün	Fällung	—	—	dunkelgrüne Fällung	—
Sumach .	Fällung	blaugrün	Fällung	—	—	hellgrüne Fällung	hellgrüne Fällung
Quebracho	Fällung	grün	Fällung	rot	rot	violette Fällung	violette Fällung
Maletto .	Fällung	grün	Fällung	rot	rot	violette Fällung	violette Fällung
Tee . . .	Fällung	blaugrün	Fällung	rot	rot	braune Fällung	braune Fällung
Maté . .	Fällung	grün	Fällung	gelb, dann grün	gelb, dann grün	gelbe Fällung	gelbe Fällung
Kaffee. .	Fällung	grün	Fällung	gelb, dann grün	gelb, dann grün	gelbe Fällung	gelbe Fällung

unter sanfter Bewegung bis zum Verschwinden der Rotfärbung titriert. Der Stand der Bürette wird dann abgelesen, 3 Tropfen Kongorotlösung ins Körbchen getropft und die Titration fortgesetzt, bis die dunkle, rote Farbe verschwindet. Aus der Differenz zwischen den zwei Endpunkten kann die Quantität der absorbierten Kohlensäure berechnet werden. Naturgemäß sind die aus den Manometerablesungen hervorgehenden Beträge des absorbierten Sauerstoffs keine für die Wirkungsstärke der Peroxydase geltenden absoluten Werte, sondern nur relative Vergleichszahlen. Die Zahlen variieren auch mit der Stärke der Pyrogallollösung, mit der Temperatur, mit der Menge der zur Absorption der Kohlensäure verwendeten Lauge, deren Relation zum Sauerstoff eine Rolle spielt, so daß alle diese Momente, will man vergleichbare Werte erhalten, berücksichtigt und gleich gehalten werden müssen. Das gilt auch von der Stärke des Schüttelns, so daß alle Operationen durch Maschinenkraft, am besten durch den elektrischen Strom bewirkt werden.

Zum Nachweis der oxydierenden Enzyme läßt sich, namentlich wenn nur kleine Mengen zur Verfügung stehen, die Kapillarisationsmethode von J. Grüss[1]) verwenden, welche auf der verschiedenen Absorption der einzelnen Bestandteile einer Mischung in Filtrierpapier beruht, kombiniert mit einer Farbstoffreaktion. Um Filtrierpapier in passender Größe auszuspannen, hält man sich Messingreifen von 4 cm Höhe und 10, 15, 20 und 25 cm Durchmesser vorrätig. Ein solcher Ring wird mit einem kreisförmig ausgeschnittenen Filtrierpapier überdeckt, ein zweiter, etwas größerer Messingstreifen wird dann darübergestreift, so daß der Kapillarisator wie eine Trommel aussieht. Die

[1]) J. Grüss, Kapillaranalyse einiger Enzyme, Ber. d. d. bot. Ges. **26a**, 191, 620 (1908), **27**, 313 1909.

$CuSO_4$ sauer	Fehlings Lösung	Silbernitrat-Ammoniak	Brom-wasser	Uranyl-azetat	rauchend. HNO_3	Molybdäns. Ammon	$K_3Fe(CN)_6$
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
grün	schwache Reduktion	Reduktion	gelbe Fällung	rote Fällung	gelbrote Fällung	gelb bis rot	Wärme rotbraun, dann dunkelgr.
grün	schwache Reduktion	Reduktion	gelbe Fällung	rote Fällung	gelbrote Fällung	rötlich	braun, dann grün
—	—	—	—	—	—	—	Hitze grün
gelbgrün. Niederschlag	—	erst gelbweiß, dann Reduktion	rote Fällung	braune Fällung	blutrot	blutrot	Hitze grün
gelbgrün. Niederschlag	schwache Reduktion	erst gelbweiß dann Reduktion	rote Fällung	braune Fällung	blutrot	blutrot	Hitzegrün, dann blaugrün

Kapillarisatoren werden in einer Kristallisierschale übereinandergestellt, in welche ein Tropfen Toluol oder sonst eines Antiseptikums hineingetan wird; die Kristallisierschale kommt in eine größere, deren Boden mit Wasser bedeckt ist und in welche eine bedeckende Glasglocke gestellt wird; durch den Tubus der Glocke leitet man, wenn es sich um ein oxydierendes Enzym handelt, Wasserstoff ein. Man kann z. B. in der Aleuronschicht von Gerstenkörnern, die man mit Quarzsand zerrieben hat, den Nachweis von Diastase, Oxydase und Antioxydase nebeneinander führen. Das zur Kapillarisation benutzte Filter tränken wir mit einer halbprozentigen Lösung von löslicher Stärke und lassen es trocknen. Auf dem im Kapillarisator ausgespannten Stärkepapier stellt man zunächst durch Auftropfen eines Tropfens Wasser einen Wasserring her: Dazu bewegen wir eine kleine Pipette mit 0,2 ccm Wasser im Kreise herum, während wir dasselbe langsam ausfließen lassen, so daß eine wasserhaltige ringförmige Zone entsteht, deren inneres, trockenes Mittelfeld 1—2 cm Durchmesser besitzt. Auf dieses bringen wir die mit etwas Thymol versetzte, zerriebene Masse der Aleuronzellen; nach 24 Stunden hat sich das Kapillarisationsfeld ausgebreitet, aus dem man einen Sektor herausschneidet, den man zum Nachweis der Diastase über Joddämpfe hält: die Jodfärbung der Stärke wird dort ausbleiben, wo die Stärke durch die Diastase verändert worden ist. Ein zweiter Sektor wird in eine alkoholische Guajaklösung getaucht und nach Abdunsten des Alkohols auf eine Unterlage von Fließpapier aufgedrückt, welches mit einer verdünnten Lösung von Wasserstoffsuperoxyd angefeuchtet ist. Die dadurch entstehende dunkelblaue Färbung reicht so weit, als Stärke gelöst ist; eine zweite hellblaue Randzone greift darüber hinaus, in der die Oxydase zu suchen ist. Ein dritter Sektor wird auf Filtrierpapier gebracht, das mit einer Lösung von Tetramethylparaphenylendiamin (Violaminlösung) getränkt ist, wie sie auch

zum Nachweis geringer Sauerstoffspuren im sogenannten Wursterschen Reagenzpapier vorliegt; die Randzone färbt sich an der Luft violett, enthält mithin Oxydase. Ein vierter Sektor wird mit einer mit etwas Wasserstoffsuperoxyd versetzten Lösung von Paraphenylendiamintartrat (Ursoltartrat) angefeuchtet. Die dadurch hervorgerufene schiefergraue Färbung stimmt im allgemeinen mit der Guajakfärbung überein, nur da, wo Antioxydase ist, bleibt das Papier weiß und färbt sich außerhalb des Kapillarisationsfeldes langsam gelbbraun. Wenn man einen anderen Sektor mit einer Lösung von Karminsäure anfeuchtet, die man mit Soda oder Lithiumkarbonat schwach übersättigt und ihn auf ein mit Wasserstoffsuperoxyd angefeuchtetes Filtrierpapier legt (die Wasserstoffsuperoxydlösung ist gegen die Karminlösung so eingestellt, daß deren Entfärbung allmählich in einer bestimmten Zeit erfolgt), so muß diejenige Zone des Kapillarisationsfeldes, welche die Antioxydase enthält, die rote Färbung am längsten bewahren. Auf diese Weise kann man auch Oxydase und Antioxydase in jungen Trieben von Pteris aquilina aufsuchen und findet ihre hauptsächlichste Wirksamkeit in der Rinde, wo der Sauerstoff am besten hinkann, während im Leptom die Antioxydase lokalisiert ist.

X. Gerbstoffe.

Für den Nachweis von Gerbstoffen sind eine Reihe von Reagenzien in Gebrauch, welche ich tabellarisch nach Nierenstein[1]) wiedergebe, und welche auf Seite 246 und 247 oben, ebenso auf S. 249—254 abgedruckt sind.

Während früher für die Einteilung der Gerbstoffe lediglich die Färbung maßgebend war, welche auf Zusatz von Ferrichlorid entsteht, weiß man heute wenigstens, daß diejenigen Gerbstoffe, welche mit Ferrisalzen eine tiefblaue Färbung geben, Pyrogallolgerbstoffe sind, die sich damit grünfärbenden oder grünblaue Reaktion gebenden Pyrokatecholgerbstoffe. Mit Bromwasser geben die ersteren eine Färbung, die letzteren nicht, bei der Kalischmelze liefern die Pyrogallolgerbstoffe Gallussäure, die Pyrokatecholgerbstoffe Protokatechusäure, Resorzin, Phlorogluzin und aliphatische Säuren.

Für den Nachweis der Gerbstoffe von besonderer Bedeutung ist die Gelatinefällung. Man verwendet eine halbprozentige Lösung, die durch Erwärmen auf dem Wasserbade bei 60—70 ° dargestellt wird. Zur Extraktion der Gerbstoffe empfiehlt Nierenstein die von Procter modifizierte Kochsche Methode. Die Apparatur (Fig. 78) besteht aus einem heberförmig zweimal rechtwinklig gebogenen Trichterrohr, das am Trichterende mit Seidengaze überzogen und am anderen Ende mit einem Gummischlauch, Schraubenquetschhahn und einem dünnen Glasrohre versehen ist. Der Trichter wird in ein Becherglas eingesetzt und dort mit einer Klemme festgehalten. In das Becherglas kommt das mit Sand vermischte, zu extrahierende Material. Man übergießt mit Wasser und erwärmt auf dem Wasserbade zuerst auf 30—40 ° und läßt innerhalb einer Stunde zirka 80 ccm ablaufen, erwärmt dann im Wasserbad auf 100 °, läßt ab und konzentriert durch Abdampfen,

[1]) M. Nierenstein, Darstellung, Untersuchung, Nachweis und Analyse der Gerbstoffe, VI. Abderhaldens Biochem. Arb. meth. Seite 165.

Reagens	Fichtenrinde	Eichenrinde	Weidenrinde	Mimosarinde	Hemlockrinde	Eichenholz	Quebrachoholz
Wasser . . .	orangefarbene Trübung	weißgelber Niederschlag, teilweise rötlich	grünweiße Trübung	weißgelber Niederschlag braune Lösg.	dunkelbraunroter Niederschlag	lichtgelbe Trübung	Trübung
H_2O_2	do.	do.	apfelgrüner Niederschlag	do.	lichtbrauner Niederschlag und Lösung	weißgelber, flokkiger Niederschlag	braungelber flockiger Niederschlag
HCl	braunrote Lösung	braungelber Niederschlag, braune Lösg.	weißgelber Niederschlag, rosenrote Zon	do.	dunkelbraun. Niederschlag und Lösung	lichtrotgelber flockiger Niederschlag	do.
H_2SO_4 . . .	Niederschlag u. Lösung rostbraun	weißgelber Niederschlag, br. Lösung	lichtbraungelb. Niederschlag, oben kirschrote Zine, Niederschlag und Lösung	geringer rostbrauner Niederschlag, dunkle Lösg.	dunkelrostbraune Lösung	brauner Niederschlag und Lösung	dunkelbraune Lösung
HNO_3 . . .	braungelber Niederschlag, dunkelbraune Lösung	do.	gelb	do.	rotbrauner Niederschlag und Lösung	gelber flockiger Niederschlag	geringer Niederschlag, rotbraune Lösg.
Essigsäure .	weißgelber Niederschlag	—	—	—	—	—	—
Ammoniak .	brauner Niederschlag, im Übersch. teilweise löslich	dunkelgelber Niederschlag, im Überschuß löslich	Trübung	violettrot, im Überschußlöslicher Niederschlag	dunkelbrauner, im Überschuß unlöslicher Niederschlag	Niederschlag, im Überschuß rot gelöst	dunkelbrauner Niederschlag
Chloroform .	rotgelber flokkiger Niederschlag, Lösg. braun	weißgelber Niederschlag, gelbl. Lösung	weißliche Trübung	—	—	dunkelbraune Ausscheidung	Lösg. schwachgelb, oben rotbraun
Äther	lichtbrauner Niederschlag	lichtgelber Niederschlag	—	grauvioletter Niederschlag	brauner Nieder sch.ag	geringer weißgelber Niederschlag	—
Essigäther .	Trübung	—	—	—	—	—	—

Reagens	Fichtenrinde	Eichenrinde	Weidenrinde	Mimosarinde	Hemlockrinde	Eichenholz	Quebrachoholz
Benzol	rotbrauner Bodensatz	brauner flockig. Niederschlag	—	schwarzrote Schicht am Boden	braune Schicht am Boden	geringer rotbrauner Niederschlag	—
Petroläther	ungefärbt	schwachgelb	—	—	schwachrot	—	—
Schwefelkohlenstoff	gelb gefärbt	gelb	grün	schwachgelb	—	—	—
Naphthol	brauner Niederschlag und Lösung	brauner Niederschlag u. Lösung	gelbgrüner Niederschlag, dunkelbraunrote Lösung	braunerNiederschlag u. Lösung	—	gelbbrauner Niederschlag dunkle Lösg.	gelbbrauner Niederschlag dunkelbraune Lösung
Glyzerin	gelber flockiger Niederschlag	—	weißgrüner flockiger Niederschlag	—	roter flockiger Niederschlag	schwache Trüb.	—
Weinsäure	weißgelbe Trübung	geringer weißgelber Niederschlag	grüngelbe Flocken	braungelber Niederschlag	rotbrauner Niederschlag	weißgelber flockiger Niederschlag	braungelber flockiger Niederschlag, dunkelbraune Lösung
Zitronensäure	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Oxalsäure	do.	do.	do.	do.	volumin., rotbrauner Niederschlag	do.	do.
Trinitrophenol	gelblicher Niederschlag und Lösung	gelblicher Niederschlag, braune Lösg.	—	—	gelbbrauner Niederschlag	—	—
Salizylsäure	lichtbrauner Niederschlag	weißgelber, flockiger Niederschlag	grünlichgelber Niederschlag	geringer braun. Niederschlag	starker rotbr. Niederschlag	weißgelber Niederschlag	braungelber Niederschlag, dunkelbraunrote Lösung
Brechweinstein	falbfarbener Niederschlag	graugelber Niederschlag	weißgrauerNiederschlag, ob. tiefgrüne Sch.	violettroter Niederschlag	schmutzigbr. Niederschlag	do.	falbfarbener Niederschlag
$K_4Fe(CN)_6$	weißgelber Niederschlag	weißgelber Niederschlag	weißgrünerNiederschlag	fleischroter Niederschlag	rotbrauner Niederschlag	weißer Niederschlag	lichtbraunroter Niederschlag

Reagens	Fichtenrinde	Eichenrinde	Weidenrinde	Mimosarinde	Hemlockrinde	Eichenholz	Quebrachoholz
CNSK . . .	braungelblicher flockiger Niederschlag, in d. Wärme löslich	braungelber flockiger Niederschlag	blattgrüner Niederschlag	schokoladebrauner Niederschlag	rotbrauner, in d. Wärme löslicher Niederschlag	weißgelber Niederschlag, lichtgelbe Lösung	—
KCN	lichtbraune Trübung	lichtbraune Trübung	do.	—	do.	Niederschlag unten braun, oben weißgelb	geringer Niederschlag, amarantrote Lösung
Kalk	braungelblicher Niederschlag, an der Oberfläche glänzd.	braungelber, oben schokoladefarbener Niederschlag, gelbe Lösung	gelbe Lösung, schmutzig schwefelgelb Niederschlag	blauvioletter, oben brauner Niederschlag	violettbrauner Niederschlag oben glänzend erdbraun	Niederschlag oben blau, dann braun, unten weiß	Niederschlag violettbraun, oben dunkelbraun
Baryt . . .	schmutziggelb. Niederschlag weißgelbe Lösung	do.	do.	blaugrün, oben brauner Niederschlag	do.	bläulich. später brauner Niederschlag, ob. glänzend rotbraun	Niederschlag weißgrau, ob. schokoladef. glänzend
Strontian . .	do.	do.	do.	schmutzigblauer Niederschlag	do.	Niederschlag unten weiß, oben blau, dann lichtbr.	do.
Magnesia . .	lichtbrauner Niederschlag	schmutzigweiß. Niederschlag	violettroter Niederschlag, Lösung grün	grauer Niederschlag	roter Niederschlag	weißgelber Niederschlag	Niederschlag violettrot, Lösung dunkel
$KCrO_4$ . . .	erdbrauner Niederschlag	gelbbrauner Niederschlag	chromgelber Niederschlag	brauner Niederschlag	brauner Niederschlag	blaugrüner, später braun. Niederschlag	dunkelbrauner Niederschlag
$HgCl_2$	lichtrotbrauner Niederschlag	weißgelbe Trübung	weißer Niederschlag	lichtblauer Niederschlag	blutroter Niederschlag	weißgelber, flockiger Niederschlag	dunkle Trübg.
$HgNO_3$ . . .	schmutziggraubrauner Niederschlag	rötlichgelber, dann graubr. Niederschlag	nach längerem Stehen schmutziggelber Niederschlag	schmutzigbrauner Niederschlag	braunrot, dann erdfarben	ziegelroter, dann brauner bis graugelber Niederschlag	schokoladebr. Niederschlag nach längerem Stehen

Reagens	Valonea	Myrobalanen	Dividivi	Sumach	Knoppern	Birkenrinde
Wasser . . .	schmutziggelbe Trübung, oben dunkle Zone	schmutziggelbe Trübung	starke gelbbraune Trübung	schmutziggrüner Niederschlag	weißgelber Niederschlag	braungelbe Trübg.
H_2O_2	do.	gelblicher Niederschlag	gelblicher Niederschlag	grüner Niederschl.	do.	rotbrauner Niederschlag
HCl	lichtbraune Trübung	lichtbraune Trübung	weißgelber Niederschlag, rotbraune Lösung	dunkelgrüner Niederschlag	do.	gelbbrauner Niederschlag
H_2SO_4 . . .	geringer gelblicher Niederschlag, lichte Lösung	geringe gelbbraun. Trübung	schmutzigroter Niederschlag	lichtgrüner Satz, grüne Lösung	graugelber Niederschlag	starker rotbrauner Niederschlag, dunkle Lösung
HNO_3 . . .	geringer lichtbrauner Niederschlag, dunkle Lösung	schmutzigrote Färbung	schmutzigbraune Trübung	schwarzgrüner Niederschlag	dunkelgelber Niederschlag	rostbrauner Niederschlag und Lösung
Essigsäure .	gelbliche Färbung	dunkelgelbe Trübung	lichtbraune Trübung	dunkelgrüner, zuerst heller, dann schmutziggrüner Niederschlag	gelbbrauner Niederschlag	—
Ammoniak .	gelblich-weißer Niederschlag, teilweise löslich, beim Stehen kirschrot	gelblichweißer, später brauner Niederschlag, im Überschuß lösl.	gelblichweißer Niederschlag, im Überschuß teilweise löslich, beim Stehen braun	geringe grüne Ausscheidung	dicker grauweißer Niederschlag, rot nachdunkelnd	dunkelfleischroter Niederschlag, in Überschuß löslich
Chloroform .	gelbgraue Flocken	gelbgraue Flocken	gelblichbraune Flocken	—	starker weißgelber Niederschlag	geringer brauner Niederschlag
Äther	—	—	—	—	graubrauner Niederschlag	Spur innen fleischroter Niederschl.
Essigäther .	—	—	—	nach längerem Stehen geringer gelblicher Niederschlag	—	—

Reagens	Valonea	Myrobalanen	Dividivi	Sumach	Knoppern	Birkenrinde
Benzol . . .	schmutziggelbweißer, dann schwarzer Niederschlag	lichtgelbe Flocken	rostbrauner Niederschlag	—	rötlichgelbe Flocken	—
Petroläther .	—	—	—	grün	gelbgrün	—
Schwefelkohlenstoff . .	an der Grenzzone dichte gelbe Flocken	an der Grenzzone gelbe Flocken	an der Grenzzone gelbe Flocken	do.	gelbgrün	—
Naphthol . .	geringer gelbbr. Niederschlag	geringer gelblicher Niederschlag	geringer gelbbr. Niederschlag	grünbrauner Niederschlag	nach längerem Stehen geringer grauer Niederschlag	gelbbrauner Niederschlag
Glyzerin . .	nach längerem Stehen gelblicher Niederschlag	nach längerem Stehen braune Flocken	nach langem Stehen sehr geringe Trübung	nach langem Stehen schwarzgrün. Niederschlag	schwache Trübg.	dunkelrote Lösung Trübung
Weinsäure .	gelbgrauer Niederschlag	gelblicher Niederschlag	gelblicher Niederschlag	grüner Niederschl.	grünlichgelber Niederschlag	lichtrostbrauner Niederschlag
Zitronensäure	do.	do.	do.	do.	do.	do.
Oxalsäure . .	schwefelgelber Niederschlag	do.	gelbbrauner Niederschlag, lichtbraune Lösung	do.	do.	do.
Trinitrophenol	schmutziggelbbrauner, später zitronengelber Niederschlag	gelblichweißer, später im Überschuß löslicher brauner Niederschlag	rostbraun, später orangegelbeTrüb.	apfelgrüner Niederschlag	—	—
Salizylsäure .	gelbgrauer Niederschlag	gelbgraue Flocken	gelblicher Niederschlag	grüner Niederschl.	graugelber Niederschlag	do.
Brechweinstein	lichtgelber graulicher Niederschl.	lichtcremefarbiger Niederschlag	ockergelber, käsiger Niederschlag	grünlichgelber käsiger Niederschl.	schmutzigweißer käsiger Niederschlag	starker rostbraun. Niederschlag
$K_4Fe(CN)_6$.	lichtgelbweißer Niederschlag	do.	orangefarbener Niederschlag	lichtgrüner Niederschlag	grünlichgelber Niederschlag	starker lichtrostbrauner Niederschlag

Reagens	Valonea	Myrobalanen	Dividivi	Sumach	Knoppern	Birkenrinde
CNSK . . .	gelbgrauer Niederschlag	lichtgelbe Flocken	dunkelgelber Niederschlag	grüner Niederschl.	orangegelber Niederschlag	Trübung
KCN	do.	do.	do.	do.	käsiger rötlichweißer nachdunkelnder Niederschlag	weißgelber Niederschlag, oben erdbraun und glänzend
Kalk	lichtschokoladebrauner Niederschlag	eigelber Niederschlag, farblose Lösung	isabellfarbener nachdunkelnder Niederschlag	erst grüner, dann gelber Niederschlag	grünbrauner Niederschlag	fleischroter, oben zinnoberroter Niederschlag
Baryt . . .	do.	do.	do.	erst grüner, dann schwefelgelber Niederschlag	grüner Niederschlag, üb. Nacht graubraun	weißgrauer, oben brauner Niederschlag
Strontian . .	schokoladebraun. Niederschlag, später schwarz	grüner, dann brauner Niederschlag	schwachrötlicher Niederschlag	do.	do.	weißgrauer, oben zinnoberroter Niederschlag
Magnesia . .	gelblicher Niederschlag	gelblicher Niederschlag	oben schmutziggrauer, graubrau. Niederschlag	schmutziggrüne Masse	gelblichweißer Niederschlag	lichtfleischroter Niederschlag
$KCrO_4$ . . .	gelbbrauner Niederschlag	schmutzigbrauner Niederschlag	dunkelbrauner Niederschlag	schmutzigbrauner Niederschlag	dunkelvioletter, dann schokoladefarbener Niederschlag	kastanienbrauner Niederschlag
$HgCl_2$ . . .	schmutziggelber Niederschlag, teilweise löslich	gelbbrauner Niederschlag im Überschuß lösl.	brauner Niederschlag, im Überschuß größtenteils löslich	schmutziggrauer Niederschlag	gelbgrüner Niederschlag	rotgelber Niederschlag
$HgNO_3$ . . .	orangegelber Niederschlag, später schmutziggrau	orangegelber, dann graugelber Niederschlag	orangegelber, später schmutziger Niederschlag	im Überschuß teilweise löslicher, beim Stehen gelb ausfallender laubgrüner Niederschlag	orangefarbener grau werdender Niederschlag	grauer Niederschl.

worauf man die beiden Extrakte vereinigt, die aber zusammen nicht ganz einen Liter ausmachen dürfen; man filtriert, pipettiert einen Teil (je nach dem Gerbstoffgehalt 50—200 ccm) ab und bestimmt durch Abdampfen bis zur Trockene den „Gesamtrückstand". Die wichtigste Operation besteht nun in der Entgerbung zur Feststellung der „Nichtgerbstoffe", deren Differenz gegenüber dem Gesamtrückstand die „Gerbstoffe" angibt.

1. Hautpulvermethode. Zur Ausfällung des Gerbstoffes (ein ausgezeichnetes Extraktionsmittel für Gerbstoffe ist Azeton, aus dem Azetonextrakt läßt sich der Gerbstoff durch Äther fällen) benutzt man das käufliche Hautpulver im Procterschen Glockenfilter (Fig. 79). Es besteht aus einer Glasglocke, deren Verjüngung einen durchbohrten Korkstöpsel trägt, durch dessen Öffnung ein doppelt gebogenes Heber-

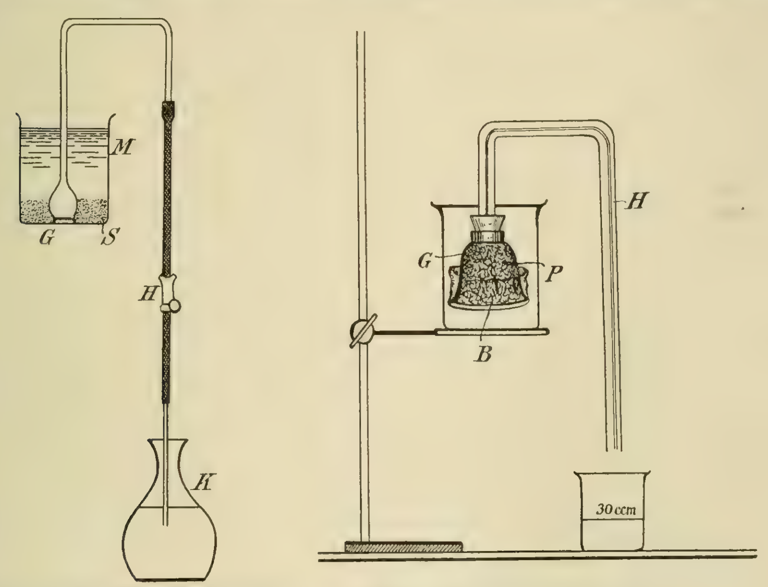


Fig. 78. Apparat zur Gerbstoffextraktion. K = Kolben; H = Quetschhahn; M = Becherglas; G = Seidengaze; S = Extraktionsmaterial und Sand.

Fig. 79. Procters Glockenfilter. G = Glasglocke; H = Heberkapillarrohr; B = Baumwolle; P = Hautpulver.

kapillarrohr zieht. Das Ende des Rohres schneidet mit dem Stöpsel ab. In die Glocke wird ein kleiner Bausch trockener, gut gewaschener Baumwolle gesteckt, der das Eindringen des Hautpulvers in die Kapillare verhindert. Nun wird die Glocke mit Hautpulver gefüllt, so daß dieses stark gestopft ist, namentlich an den Rändern muß stärker gestopft werden, damit sich die Gerbstofflösung nicht an den Glaswandungen hinaufzieht. 7—8 g Hautpulver genügen für eine Glocke. Dann wird die offene Basis der Glocke mit einem Stück trockener, sorgfältig gewaschener, nicht zu feinmaschiger Gaze mit Hilfe eines Gummiringes verschlossen. Man spannt nun das Heberrohr in eine Klemme ein, senkt die Glocke bis fast auf den Boden eines 200 ccm fassenden Becherglases und gießt in dieses eine kleine Menge der gerbstoffhaltigen Lösung, damit zunächst das Hautpulver durch Kapillarwirkung gleichmäßig benetzt werde. Dann wird das Becherglas vollgegossen und am Heberrohr gesaugt, bis die Lösung langsam abfließt; es sollen in der Minute

5—8 Tropfen austreten. Die ersten Anteile des Filtrates enthalten noch lösliche Bestandteile des Hautpulvers, können also zur Bestimmung der Nichtgerbstoffe nicht dienen. Das Filtrat ist solange nicht zu verwenden, als einige Tropfen noch mit einigen Tropfen Tanninlösung Niederschlag oder Trübung hervorrufen, was bei gutem (schwachchromiertem) Hautpulver nach 30 abgelaufenen Kubikzentimetern einzutreten pflegt. Das weitere Filtrat fängt man in einem 60 ccm fassenden Kölbchen auf, das man bis zu der bei 60 ccm angebrachten Marke auffüllen läßt. Das Filtrat muß völlig wasserhell sein und darf mit essigsaurem Eisen keine Gerbstoffreaktion geben (Färbungen, welche mit diesem Reagens in dem Filtrat der Nichtgerbstoffe fast immer eintreten, sind nach Nierenstein gewöhnlich auf Gallussäure zu beziehen). Von dem gerbstoffreien Filtrat wird ein Teil abpipettiert und auf dem Wasserbade verdampft. Will man das Hautpulver auf seine Wirksamkeit prüfen, so filtriert man in der eben beschriebenen Weise destilliertes Wasser durch das Hautpulver, nachdem 30 ccm des Filtrates verworfen wurden, dürfen die folgenden 50 ccm, am Wasserbade eingedampft, einen Rückstand von höchstens 5 mg ergeben. Statt des Hautpulvers verwendet Nierenstein sorgfältig durch Äther entfettetes Kasein. 100 ccm des Gerbstoffextraktes werden mit 6 g Kasein 10 Minuten geschüttelt und hierauf mit weiteren 6 g Kasein behandelt und durch ein Barytfilter filtriert, worauf man wie bei der Hautpulveranalyse verfährt.

2. Die Löwenthalsche Permanganatmethode. Wir brauchen dazu eine Lösung von 10 g $KMnO_4$ in 6000 ccm destillierten Wassers. Ferner eine Lösung von 10 g indigoschwefelsaurem Natron in 1000 ccm Wasser. 20 ccm dieser Lösung mit 750 ccm Wasser verdünnt, dürfen nicht mehr als 10—11 ccm $KMnO_4$-Lösung verbrauchen. Ferner eine Lösung von 2 g reinsten Tannins in 1000 ccm Wasser, welche Lösung zur Titerstellung dient; schließlich weißes Hautpulver, das an kaltes Wasser (3 g Hautpulver auf 50 ccm Wasser) keine Permanganatlösung reduzierenden Bestandteile abgibt. In eine flache weiße Porzellanschale von zirka 1500 ccm Fassungsraum bringt man 750 ccm destilliertes Wasser, 20 ccm Indigolösung und 10 ccm des auf zirka 0,1 % verdünnten Gerbmaterialauszuges. In diese Mischung läßt man aus einer Bürette je 1 ccm Permanganatlösung auf einmal einfließen und rührt nach jedem Zusatz mit dem Glasstab kurz und gleichmäßig um. Wird endlich die Flüssigkeit bei weiterem Zusatz der Titerlösung nur hellgrün, so setzt man nur je 2—3 Tropfen zu, bis die Flüssigkeit rein gelb wird, womit der Endpunkt der Reaktion erreicht ist. In weiteren 50 ccm der Gerbstofflösung werden mit Hautpulver oder Kasein die Gerbstoffe durch Schütteln ausgefällt und 10 ccm der durch ein Leinwandfilter filtrierten Lösung in gleicher Weise mit Permanganat titriert. Die Differenz gibt den Gerbstoffgehalt.

XI. Glukoside.

Bei der Darstellung dieser Pflanzenstoffe ist auf ihre überaus leichte Zersetzlichkeit durch chemische Agenzien und Enzyme zu achten, so daß man am besten tut, nur frische, möglichst unzerkleinerte Pflanzenteile mit kochendem Alkohol rasch zu extrahieren. Allgemeine Vor-

schriften für die Darstellung von Glukosiden lassen sich aber nicht geben, sondern es kommt sehr wesentlich auf den speziellen Fall an. Ein ausgezeichnetes Reagens auf Glukoside ist Emulsin, welches alle bisher bekannten linksdrehenden Glukoside spaltet. Durch die enzymolytische Wirkung entsteht aus dem linksdrehenden Ausgangsmaterial neben einem optisch inaktiven Produkt die rechtsdrehende und überdies als reduzierender Zucker durch Fehlings Lösung erkennbare Dextrose. Man fügt also nach E. Bourquelot der auf Glukoside zu untersuchenden wässerigen Lösung Emulsin zu und erkennt nach Ablauf der Reaktionszeit an der Umkehrung der Drehungsrichtung und an der Kupferreduktion das Vorhandensein eines durch Emulsin spaltbaren (von der α-Glukose ableitbaren, linksdrehenden) Glykosids; da der Betrag der jetzt umgekehrten Drehung und die Menge der gebildeten Dextrose dem ursprünglich vorhandenen Glykosid an Quantität annähernd proportional ist, kann man durch Emulsinspaltung auch die Menge des vorhandenen Glykosids annähernd bestimmen. Da die Drehungskonstanten für eine ganze Reihe Glykoside feststehen, kann man auch erkennen, ob das Glykosid, das man zu bestimmen wünscht, bereits bekannt ist oder nicht, und man kann auch eventuell das Vorhandensein eines zweiten Glykosids an der Menge der abgespaltenen Dextrose erkennen. Wenn ein bekanntes Glykosid in einer bestimmten Menge Lösungsmittel gelöst und der Betrag der Drehung im Polarisationsrohre bestimmt und darauf eine Spaltung durch Emulsin vorgenommen wird, so ist die gebildete Glukosemenge und der Betrag der nun eingetretenen Rechtsdrehung in ihrem gegenseitigen Verhältnis konstant und die in 100 ccm gebildete Dextrosemenge, welche einer Drehungsänderung um 1 ^{0} entspricht, ist für jedes Glykosid eine leicht zu berechnende Größe, deren Bestimmung eine Identifizierung des Glykosids im Pflanzenextrakt selbst ohne Isolierung des Glykosids ermöglicht. Man muß also zunächst feststellen, ob ein durch Emulsin spaltbares Glykosid vorliegt und bestimmt dann jene Verhältniszahl zwischen Drehungsänderung und Menge der gebildeten Glykose, worauf man einfach nachsieht, ob die gefundene Zahl mit einem der bereits bekannten Glykoside übereinstimmt, oder ob es sich um ein noch unbekanntes Glykosid handelt. Natürlich ist Voraussetzung, daß nicht mehrere durch Emulsin spaltbare Glykoside gleichzeitig vorliegen und daß die Verhältniszahlen über die Fehlergrenzen sich voneinander unterscheiden. Diese Verhältniszahl, der enzymolytische Reduktionskoeffizient Bourquelots, bedeutet die Glukosenmenge q in Milligrammen, die in 100 ccm der Lösung frei wird, während das Drehungsvermögen der Lösung in einem Polarisationsrohr von 2 dcm Länge um 1 ^{0} nach rechts umschlägt. Dieser enzymolytische Reduktionskoeffizient ist für eine Reihe von Glykosiden bestimmt worden (Siehe die Tabelle S. 258.).

Für die Berechnung des enzymolytischen Reduktionskoeffizienten gibt Zemplén folgendes Beispiel. Salizin wird durch Emulsin nach der Gleichung

$$C_{13}H_{18}O_7 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_7H_8O_2$$

Molekulargewichte 286 18 180 124

zu Saligenin und d-Glukose hydrolysiert. Es seien in 100 ccm der wässerigen Salizinlösung 2,86 g des Glukosids enthalten, wobei eine Linksdrehung von — 3,71 ^{0} auftritt. Nach der enzymolytischen Hydro-

Glukosid	Drehungsvermögen	Koeffizient
Verbenalin	— 180,5 °	19
Bakankosin	— 205,7 °	108
Gentiopikrin	— 200,9 °	111
Aukubin	— 174,4 °	144
Meliatin	— 81,9 °	240
Picein	— 84 °	261
Koniferin	— 66,9 °	278
Sambunigein	— 76,3 °	281
Taxikatin	— 72,9 °	296
Salizin	— 64,9 °	321
Methylarbutin	— 63,4 °	326
Prulaurasin	— 53 °	359
Isoamygdalin	— 51,4 °	425
Amygdalin	— 39 °	490
Syringin	— 17,1 °	570
Amygdonitrilglukosid	— 26,9 °	517
Arbutin	— 63,8 °	700
Erytaurin	— 134,4 °	—
Oleuropein	— 153 °	117
Jasmiflorin	— 145 °	—

lyse enthalten die 100 ccm nach der Gleichung 1,80 g Glukose und 1,24 g Saligenin. Diese Glukosemenge besitzt ein Drehungsvermögen von + 1,89 °, der ganze Drehungsrückgang beträgt also 3,71 ° + 1,89 ° = 5,60 °, da jetzt statt einer Linksdrehung von — 3,71 ° eine Rechtsdrehung von + 1,89 ° zu sehen ist. Das gesamte Reduktionsvermögen gegenüber Fehlings Lösung beruht auf der Gegenwart der 1,80 g Glukose in 100 ccm. Auf 1 ° Drehungsrückgang entfallen daher 0,321 g Glukose — der Reduktionskoeffizient. Treten neben Glukose bei der enzymatischen Spaltung eines Glukosids außer dem Zucker noch andere reduzierende Stoffe auf, deren Reduktionsvermögen bekannt ist, so muß dieses vom Gesamtreduktionsbetrage abgezogen werden. Ist das Glykosid unbekannt, so kann der Koeffizient nur dann experimentell bestimmt werden, wenn das Glykosid isoliert, dessen Drehungsvermögen und nach der Enzymhydrolyse dessen Reduktionswert bestimmt wird. So konnte das Taxikatin in den Blättern von Taxus baccata als neues Glykosid im Extrakte erkannt werden, denn nach der Behandlung mit Emulsin resultiert eine Verschiebung des Drehungsvermögens von links nach rechts, und einer Drehungsänderung von 1 ° entspricht die Bildung von 0,624 g Glukose, eine Zahl, die bis dahin noch nirgends festgestellt worden war. Auch in vielen anderen Pflanzen und Pflanzenteilen konnten mittels der biochemischen Methode Glykoside entdeckt werden.

Wie bereits erwähnt, muß man die möglichst wenig zerkleinerten frischen Pflanzenteile direkt in siedenden Alkohol werfen und mit Alkohol extrahieren. Die alkoholische Lösung wird durch Abdestillieren unter vermindertem Druck von Alkohol befreit, wobei man zur Abstumpfung der hydrolysierend wirkenden Pflanzensäuren eine Spur Kalziumkarbonat zusetzt; der Rückstand wird mit so viel Thymolwasser aufgenommen, daß die Anzahl der Kubikzentimeter der erhaltenen Lösung dieselbe ist wie die Anzahl der Gramme, die man mit siedendem Alkohol extrahiert hat. Nun kommt in allen Pflanzenteilen Rohrzucker vor, auf den das immer in Emulsin enthaltene Invertin in der Weise einwirkt, daß der

linksdrehende Invertzucker entsteht, so daß die Originalwirkung des Emulsins verschleiert wird. Man hydrolysiert demnach zweckmäßig zuerst den Rohrzucker mittels Invertins aus Hefe und kann gleichzeitig eine quantitative Bestimmung des Rohrzuckers damit verbinden. Invertin ist zwar ein Handelspräparat, doch ist es gut, sich dasselbe immer frisch herzustellen. Bäckerhefe wird mit sterilisiertem Wasser angerührt, abgesogen, mit dem zehnfachen Gewicht 95 prozentigen Alkohols angerührt und 12 Stunden absitzen gelassen. Dann wird die Hefe an der Pumpe abgesogen und zuerst mit Alkohol, dann mit wenig Äther gewaschen und bei 30—35 ^{0} getrocknet, worauf sich das Präparat, in einer trockenen, wohlverschlossenen Flasche aufbewahrt, gut hält. Man muß stets frische, unverdorbene Hefe verwenden. Zum Gebrauche reibt man 1 g des Präparates mit thymolgesättigtem Wasser an, nach dem Filtrieren erhält man eine klare, sehr haltbare Invertinlösung. Nun teilt man die zu prüfende Lösung in einen Teil A von 50 ccm und einen Teil B von 200 ccm, zu welch letzterem man 1 g des Hefepulvers fügt, worauf man beide in kleinen, wohlverschlossenen Fläschchen in den auf 25—30 ^{0} erhaltenen Brutschrank stellt. Nach zwei Tagen entnimmt man jeder Flasche 20 ccm und fügt 4 ccm Bleiessig hinzu, worauf die nunmehr geklärte Flüssigkeit polarisiert wird. Ist Rohrzucker vorhanden, so ist er durch das Invertin gespalten worden, und das Polarimeter zeigt gegenüber der unveränderten Vergleichslösung in A einen Drehungsumschlag nach links infolge Bildung des Invertzuckers an. Bestimmt man die Menge des reduzierenden Zuckers in beiden Proben A und B, so gibt die Differenz den aus dem Rohrzucker gebildeten Invertzucker (man kann nun zur Probe umgekehrt berechnen, welche Drehung diesem Invertzucker entsprechen muß: beide Werte, der beobachtete und der berechnete, müssen übereinstimmen, wenn Rohrzucker und nicht Raffinade, Stachyose oder Gentianose vorgelegen hatte). Man wiederholt die Proben an aufeinanderfolgenden Tagen so lange, bis zwei Proben dieselben Zahlen liefern, worauf man die Invertinarbeit als beendigt betrachten und den gefundenen Invertzucker auf Rohrzucker umrechnen kann. So ist es also möglich, den Rohrzucker quantitativ zu bestimmen.

Wenn nun die Invertinhydrolyse beendigt ist, erhitzt man die Lösung 10 Minuten lang auf 100 ^{0}, läßt erkalten und fügt Emulsin hinzu. Die Darstellung des Emulsins erfolgt aus Mandeln. 100 g süße Mandeln werden eine Minute lang in kochendes Wasser getaucht, nach dem Abtropfen geschält, im Mörser fein zerstoßen und das erhaltene Produkt mit 200 ccm eines Gemisches aus gleichen Teilen destillierten Wassers und mit Chloroform gesättigten Wassers 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur mazeriert, dann durch ein feuchtes Tuch koliert und zu je 150—160 ccm Flüssigkeit 10 ccm Eisessig zur Fällung des Kaseins zugefügt. Die Fällung wird abfiltriert, zu dem klaren Filtrat die vierfache Menge 95 prozentigen Alkohols gefügt, der Niederschlag auf einem Filter gesammelt und nach dem Abtropfen mit einem Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Äther gewaschen, das Produkt im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und die erhaltenen hornartigen Blättchen zu einem nahezu weißen Pulver zerrieben, das sich, trocken und luftdicht aufbewahrt, sehr lange hält.

XII. Nachweis der wichtigsten organischen Säuren, Alkohole und Aldehyde.

Oxalsäure: Diese findet sich in Pflanzengeweben häufig als oxalsaurer Kalk und kristallisiert in farblosen säulen- oder nadelförmigen Kristallen, welche in Wasser und Alkohol leicht löslich sind und beim Erwärmen ihr Kristallwasser vollständig verlieren. Durch vorsichtiges Erhitzen auf 150—160 ⁰ läßt sich die entwässerte Säure sublimieren. Die Säure und ihre Salze zerfallen beim stärkeren Erhitzen für sich oder mit konzentrierter Schwefelsäure oder mit Schwefelsäure und Oxydationsmitteln, wie $KMnO_4$ oder MnO_2, in Kohlenoxyd und Kohlendioxyd. Von den Salzen sind die der Alkalien in Wasser löslich, die unlöslichen Oxalate der Erdalkalien können durch Kochen mit Sodalösung in Lösung übergeführt werden. Oxalsäure oder lösliche Oxalate werden durch Kalisalze nicht gefällt (Unterschied gegenüber der Weinsäure), Kalkwasser oder lösliche Kalksalze fällen weißes Kalziumoxalat, in Essigsäure unlöslich. Man extrahiert die Gewebe mit verdünnter Salzsäure, versetzt die filtrierten Extrakte mit einer Mischung von Chlorkalziumlösung und Ammoniak und übersättigt mit Essigsäure; dann löst man nochmals in Salzsäure und versetzt wieder mit Ammoniak, hierauf mit Essigsäure im Überschuß.

Weinsäure: Die neutralen Tartrate sind in Wasser leicht, die sauren Tartrate schwer löslich, wohl aber lösen sie sich nach Behandlung mit Natronlauge. Chlorkalzium fällt aus der Lösung neutraler Tartrate weißes, in Lauge lösliches Kalziumtartrat. Beim Kochen dieser alkalischen Lösung scheidet sich das Kalziumtartrat ab und verschwindet beim Erkalten der Flüssigkeit wieder (Kalziumoxalat ist in Lauge unlöslich.). Kalkwasser bewirkt in der Lösung normaler Tartrate in der Kälte einen weißen Niederschlag (Unterschied gegenüber Zitronensäure), Silbernitrat erzeugt eine weiße, flockige Fällung, die beim Kochen sich unter Abscheidung metallischen Silbers schwärzt. Versetzt man die Lösung freier Weinsäure oder eines Tartrats mit wenig Ferrosulfatlösung, fügt einige Tropfen Wasserstoffsuperoxyd und dann Natronlauge im Überschuß hinzu, so entsteht eine violette Färbung. Dadurch unterscheidet sich die Weinsäure von der Zitronensäure und Bernsteinsäure. Zur Trennung der Weinsäure von der Oxalsäure versetzt man die Lösung mit Kalkwasser, wodurch beide Säuren gefällt werden; behandelt man nun den Niederschlag mit Chlorammonium, so geht nur das Kalziumtartrat in Lösung.

Zitronensäure: Chlorkalzium erzeugt in der Lösung der freien Säure keine Fällung, Zitrate werden als weißer, in Lauge unlöslicher, in Chlorammonium löslicher Niederschlag gefällt. Wird diese Lösung bis zum Kochen erhitzt, so scheidet sich das Salz wieder aus und ist nun in Chlorammonium unlöslich (Unterschied gegenüber Weinsäure). Bleiazetat im Überschuß fällt weißes Bleizitrat, in Ammoniak löslich (Unterschied gegenüber Äpfelsäure). Besonders charakteristisch ist das Verhalten gegen Bariumazetat. Mit diesem Reagens entsteht mit Zitraten ein amorpher Niederschlag, der, mit einem Überschuß des Fällungsmittels mehrere Stunden am Wasserbad gekocht, von seinem ursprünglich bedeutenden Volumen ganz zusammensinkt und kristallinisch wird. Dieses Verhalten gestattet den Nachweis von Zitronen-

säure neben allen denjenigen Fruchtsäuren, welche, wie Weinsäure usw., gegen Bariumazetat sich indifferent verhalten. Der Nachweis sehr kleiner Mengen Zitronensäure erfolgt so, daß man in einem kleinen Glühröhrchen die zu prüfende Substanz, die nicht weniger als 5 mg Zitronensäure enthalten darf, mit der sechsfachen Menge Ammoniak übergießt, das Röhrchen zuschmelzt und in einen auf 110—120 ° erhitzten Trockenschrank legt. Bei Gegenwart von Zitronensäure färbt sich die Flüssigkeit gelblich, mitunter zeigen sich einzelne Kristalle darin; nach dem Erkalten bringt man den Inhalt des Röhrchens in eine Porzellanschale und beobachtet beim Stehen eine immer intensiver werdende Blaufärbung der Flüssigkeit; nach einigen Tagen geht die blaue Farbe in grün über, das immer mißfarbiger wird, bis schließlich Entfärbung eintritt. Die Reaktion tritt auch bei Gegenwart von Weinsäure, Äpfelsäure, Oxalsäure, von diesen unbeeinflußt, ein. Eine gute Unterscheidung von Weinsäure und Zitronensäure gibt auch eine Lösung von Kaliumbichromat: 10 ccm einer gesättigten Bichromatlösung werden in eine Eprouvette gegeben, zirka 1 g der zu prüfenden Substanz dazugetan und geschüttelt; ist bloß Zitronensäure zugegen, so ist die Flüssigkeit nach 10 Minuten noch unverändert, bei Gegenwart von Weinsäure färbt sie sich braun bis schwarz.

Äpfelsäure: Chlorkalzium erzeugt weder in der Lösung der freien Säure, noch nach dem Übersättigen mit Ammoniak oder Natronlauge eine Fällung; kocht man aber die Flüssigkeit, so scheidet sich ein weißer Niederschlag von Kalziumoxalat aus; dagegen entsteht der Niederschlag sofort, wenn man 1—2 Volumina Alkohol zur Flüssigkeit hinzufügt; beim vorsichtigen Erwärmen der Flüssigkeit ballt sich der Niederschlag harzartig zusammen und setzt sich in Form weißer Klümpchen an den Glaswandungen ab, was der unter ähnlichen Umständen entstehende Niederschlag der Bernsteinsäure nicht tut. Nach dem Erkalten der Flüssigkeit erhärten die Klümpchen und lassen sich zu einer kristallinischen Masse zusammendrücken.

Bleiazetat fällt weißes Bleimalat, welches in kochendem Wasser schmilzt und zu einer durchscheinenden, harzartigen Masse wird, die sich nach längerem Stehen kristallinisch zusammensetzt (Unterschied gegenüber Weinsäure, Oxalsäure, Zitronensäure). Um Äpfelsäure und Zitronensäure zu trennen, versetzt man mit Kalkwasser und kocht: es scheidet sich zitronensaurer Kalk aus, im Filtrat fällt auf Zusatz von Alkohol apfelsaurer Kalk. Oder man versetzt die Lösung beider Säuren mit Chlorkalzium und fügt nach und nach unter Umschütteln Alkohol hinzu, bis eben ein Niederschlag von Kalziumzitrat auftritt. Filtriert man nun ab, so entsteht im Filtrat auf reichlichen Zusatz von Alkohol ein Niederschlag von Kalziummalat. Ist aber neben Äpfelsäure gleichzeitig Oxalsäure, Weinsäure und Zitronensäure vorhanden, so können die beiden Säuren nicht durch Kalkwasser vorher ausgefällt werden, da die Zitronensäure die vollständige Abscheidung dieser Säuren verhindert. Zur Trennung führt man die Säuren in die Ammonsalze über, konzentriert durch Eindampfen, neutralisiert den Rückstand nochmals mit Ammoniak und fügt 7—8 Volumteile starken Alkohols hinzu. Dadurch werden oxalsaures, weinsaures und zitronensaures Ammon ausgeschieden, während das apfelsaure Ammon in Lösung bleibt; nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit Bleiazetat gefällt, worauf man das Bleimalat durch das oben angegebene Verhalten charakterisieren kann.

Bernsteinsäure: Eine Mischung von Chlorbarium, Ammoniak und Alkohol erzeugt in den Lösungen der freien Säure und ihrer Salze einen weißen amorphen Niederschlag, dasselbe ist bei Zusatz von Bleiazetat zu den Lösungen von Bernsteinsäure oder Sukzinaten der Fall; dieser Niederschlag ist aber in überschüssigem Reagens sowie in Bernsteinsäure und bernsteinsauren Alkalien löslich. Heiße Lösungen bleiben auf Zusatz des Reagens zunächst klar, nach einiger Zeit, besonders beim Schütteln, scheidet sich der Niederschlag kristallinisch aus.

Benzoësäure: Silbernitrat fällt weißes Silberbenzoat, in heißem Wasser löslich, und aus dieser Lösung beim Erkalten sich in Schuppen ausscheidend. Durch Eisenchlorid wird Benzoësäure aus ihren Salzen als fleischfarbener Niederschlag von basischem Eisenbenzoat gefällt; dieser Niederschlag wird durch Ammoniak aufgelöst, auf Zusatz von Salzsäure aber unter Abscheidung von Benzoësäure zersetzt. Will man die Trennung von Benzoësäure und Bernsteinsäure herbeiführen, so versetzt man mit Ferrichlorid, das beide Verbindungen fällt, und löst die Fällung in Ammoniak. Den einen Teil der ammoniakalischen Lösung prüft man nun mit Salzsäure auf Benzoesäure, den anderen mit einer Mischung von Chlorbarium, Alkohol und Ammoniak auf Bernsteinsäure.

Bestimmung von Weinsäure, Zitronensäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, nebeneinander nach Jörgensen[1]): Die Lösung wird mit Soda neutralisiert, mit Bleiazetat und Alkohol versetzt, es entsteht ein Niederschlag, der durch Schwefelwasserstoff entbleit wird; das Filtrat vom Bleisulfid wird dann auf ein kleines Volumen eingedampft, mit Kalilauge neutralisiert und mit Alkohol die Gerbsäure und ein Teil der Schwefel- und Phosphorsäure ausgefällt. Aus dem alkoholischen Filtrat wird die Weinsäure durch Eisessig als saures Kalitartrat gefällt, worauf die Bernsteinsäure aus dem von Alkohol durch Abdampfen befreiten Filtrat durch reinen, alkoholfreien Äther im Extraktionsapparat ausgezogen wird. Kann man auf Weinsäure und Äpfelsäure verzichten und kommt es nur auf die Bestimmung der Bernsteinsäure an, so werden zirka 150 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit, nach dem Eindampfen auf 100 ccm am Wasserbade, nach dem Erkalten mit 4–5 g gepulverten Bariumhydroxyds versetzt und dieses durch Umrühren möglichst in Lösung gebracht, worauf man noch 3 ccm Chlorbariumlösung (1 : 9) hinzufügt, die Flüssigkeit samt Niederschlag in einen Meßkolben bringt, auffüllt und den Niederschlag abfiltriert. 100 ccm des Filtrates werden im Glaskolben am Rückflußkühler 10 Minuten lang erhitzt, wobei anfangs starkes Schäumen eintritt. Der Inhalt des Kolbens wird in eine Porzellanschale gebracht, der Kolbenwand anhaftende feste Teilchen mit einigen Tropfen Salzsäure gelöst und das Ganze am Wasserbad zur Sirupdicke eingedampft. Der Sirup wird mit 20 ccm Wasser und 80 ccm 95 prozentigen Alkohols unter Umrühren versetzt, der Niederschlag nach mehrstündigem Stehen an der Pumpe abgesaugt und (mit Hilfe von etwas heißem Wasser) vom Filter herunter wieder in die Porzellanschale gebracht, mit 50 ccm Wasser angerührt und mit 15 ccm Schwefelsäure 1 : 4 am Wasserbad

[1]) Jörgensen, Über die Bestimmung einiger in den Pflanzen vorkommender organischer Säuren. Ztschr. f. d. Unters. v. Nahrungs- u. Genußm. 13, 241 (1907).

erhitzt. In die heiße Flüssigkeit bringt man solange 5 prozentige Permanganatlösung ein, bis sie auch bei weiterem Erhitzen und Umrühren am Wasserbad dauernd dunkelrot gefärbt erscheint, zersetzt dann den Überschuß von Permanganat durch Eisenvitriol und dampft die Flüssigkeit samt dem bei der Oxydation entstandenen Braunstein auf zirka 50 ccm ein. Die ganze Flüssigkeit samt dem Braunstein wird dann mit reinem Äther extrahiert, dem man zweckmäßig einige Tropfen Essigsäure zufügt. Nach mehrstündiger Extraktion wird der Äther abdestilliert, der Rückstand in wenig heißem Wasser gelöst, nach dem Erkalten durch ein kleines, angefeuchtetes Filter filtriert und am Wasserbad zur Trockene eingedampft. Wein- und Äpfelsäure sind durch die saure Permanganatlösung völlig zerstört worden, während die Bernsteinsäure quantitativ in den Ätherextrakt übergegangen ist. Der Abdampfrückstand wird nunmehr in Wasser gelöst und gegen Phenolphthalein mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge austitriert. Will man ganz genaue Resultate erzielen, so empfiehlt es sich, da Spuren von Essigsäure und Schwefelsäure vorhanden sein können, welche die Titrationswerte etwas zu hoch ausfallen lassen, die Bernsteinsäure in das Silbersalz überzuführen und durch Titration mit Rhodanammoniumlösung die Menge des verbrauchten Silbernitrates zu bestimmen.

Die nach dem Extrahieren der Bernsteinsäure zurückbleibende wässerige Lösung der übrigen Säuren wird neutralisiert und mit Bariumchlorid versetzt, wodurch Schwefelsäure, Phosphorsäure und Gallusgerbsäure gefällt werden. Aus dem Filtrat scheidet sich beim Versetzen mit wenig Alkohol das Bariumzitrat ab, während die zurückgebliebene Äpfelsäure aus dem Filtrat von Bariumzitrat durch größere Alkoholmengen niedergeschlagen wird. Die quantitative Bestimmung des in den isolierten Salzen vorhandenen Baryts (durch Verbrennen und Glühen) gestattet eine Beurteilung der vorhanden gewesenen Menge dieser Säuren. Aus dem alkoholischen Filtrat war früher die Weinsäure durch Eisessig als saures Kalitartrat gefällt worden, die ausgeschiedenen Kristalle werden nach Abfiltrieren der Flüssigkeit gewaschen, samt dem Filter in den Fällungskolben zurückgebracht und gegen Phenolphthalein heiß mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge titriert, von der 1 ccm = 15 mg Weinsäure entspricht.

Die Trennung von Zitronensäure und Äpfelsäure wird, wie erwähnt, so durchgeführt, daß man nach der Extraktion der Bernsteinsäure mit Natronlauge neutralisiert und die Lösung mit etwa 10 ccm einer 10 prozentigen Chlorbariumlösung fällt. Ist der Niederschlag dicht und schwer, so enthält er vornehmlich die Bariumsalze der Schwefelsäure, Phosphorsäure und der Gerbsäuren; in diesem Falle wird durch ein kleines Filter unter Nachwaschen mit Wasser filtriert und das Filtrat mit Alkohol versetzt und gut durchgeschüttelt. Ist der Barytniederschlag voluminös, so spült man ihn in einen größeren Meßkolben, fügt noch mehr Chlorbarium hinzu, füllt bis zur Marke auf und arbeitet nur mit einem Teile des Filtrates. Das Verfahren zur Trennung von Äpfelsäure und Zitronensäure richtet sich nach dem gegenseitigen Mengenverhältnis dieser beiden Säuren. Sind größere Quantitäten beider vorhanden, so genügt das einmalige Fällen mit Alkohol nicht, denn man muß auf

eine geringe Löslichkeit des Bariumzitrats in 28 volumprozentigem Alkohol Rücksicht nehmen, während anderseits die gewöhnlich verwendete Alkoholmenge (72 ccm des Filtrates werden mit Alkohol auf 100 ccm ergänzt) nicht immer ausreicht, um das gesamte Bariummalat zu lösen, welches überdies leicht zum Teil mit gefällt wird, wenn der Bariumzitratniederschlag sehr voluminös ist, so daß man dann wieder in Wasser auflösen und nochmals mit Alkohol fällen muß. Von den 100 ccm der 28 Volumprozente Alkohol enthaltenden Flüssigkeit wird der Niederschlag abfiltriert, der Rückstand wieder in den Kolben zurückgebracht, mit Wasser auf 72 ccm gelöst und nochmals mit 28 ccm Alkohol gefällt. Die Filtrate werden getrennt auf 5 ccm eingedampft, filtriert, in einen Meßzylinder gebracht, mit Wasser bis auf zirka 17 ccm gewaschen und mit dem doppelten Volumen Alkohol gefällt. Die Barytsalze der beiden Säuren werden folgendermaßen weiter behandelt: das Bariummalat wird nach dem Stehen über Nacht und Auswaschen mit einem Gemisch von Wasser und Alkohol in schwach salpetersäurehaltigem Wasser gelöst und kochendheiß mit einem geringen Überschuß von verdünnter Schwefelsäure als Bariumsulfat gefällt, das sich bald körnig absetzt, abfiltriert, getrocknet, geglüht und gewogen wird. 1 g Bariumsulfat entspricht 548 mg wasserfreier Zitronensäure und 574 mg Äpfelsäure.

Zur Bestimmung der flüchtigen Säuren, wie Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, muß eine Gewinnung dieser organischen Säuren durch Destillation und deren Identifizierung im Destillate vorausgehen. Da diese flüchtigen Säuren im Stoffwechsel der höheren Pflanzen nur eine untergeordnete Rolle spielen, sei hier auf ihre Bestimmung nicht weiter eingegangen.

A l d e h y d e: Hier kommt nur der Formaldehyd in Betracht. Fügt man zu einer aldehydhaltigen Flüssigkeit Silbernitratlösung und einige Tropfen Ammoniak, so wird der Aldehyd unter Reduktion des Silbers oxydiert; das Silber bildet dabei einen grünschwarzen Niederschlag oder setzt sich in Form eines glänzenden Spiegels an den Eprouvettenwandungen an. Versetzt man die aldehydhaltige Lösung mit einem Tropfen Fuchsinlösung, die durch schweflige Säure aber entfärbt ist (S c h i f f sches Reagens), so tritt Rotfärbung ein. Fügt man die mit verdünntem Alkali und einigen Körnchen Natriumamalgam versetzte Aldehydlösung zu einer frisch bereiteten Auflösung von Diazobenzolsulfosäure in etwa 60 Teilen kalten, mit Natronlauge versetzten Wassers, so tritt nach kurzer Zeit rotviolette Färbung ein. Diese Reaktionen sind aber nicht für Aldehyde allein charakteristisch, sondern mehr oder weniger für alle leicht oxydablen organischen Substanzen; so wird die Silberreduktion durch Traubenzucker und einige Ketone hervorgerufen, die genannten Färbungen durch Aldehydgruppen enthaltende Säuren, einige Ketone usw.

Der Nachweis des Formaldehyds in Lösungen, welche noch andere Substanzen enthalten, gelingt am besten durch Destillation und Verwandlung des Aldehyds im Destillate durch Oxydation in Ameisensäure, die dann leicht an der raschen Schwärzung ihres Silberniederschlages, an der Ausscheidung von Kalomel aus Sublimatlösungen qualitativ und auch quantitativ durch Bestimmung des Silbers, respektive Quecksilbers aus den betreffenden Salzen festgestellt werden kann. Von Farbenreaktionen seien folgende erwähnt: mit salzsaurem Phenyl-

hydrazin, einigen Tropfen Ferrichlorid versetzt und mit Schwefelsäure übersättigt, geben Formaldehydlösungen allmähliche Rotfärbung. Natronlauge und Resorzin gibt mit Formaldehyd in der Siedehitze Rotfärbung. Man benutzt eine Lösung mit 40—50% NaOH und 5% Resorzin. Gleiche Volumina der zu untersuchenden Lösung und der Resorzinlauge werden eine halbe Minute im Sieden erhalten, selbst Spuren von $^1/_{10}$ Milliontel lassen sich so durch Rotfärbung nachweisen. Kodein und Schwefelsäure erzeugen mit Formaldehyd Violettfärbung, Morphinchlorhydrat und verdünnte Schwefelsäure Purpurfärbung, die nach Indigoblau übergeht. Durch verdünnte Merkurioxyd-Natriumsulfitlösung wird Formaldehyd im Gegensatz zu Azetaldehyd nicht gefällt. Die charakteristische Farbenreaktion, welche nur mit Formaldehyd und sonst mit keinem anderen Aldehyd oder einer anderen in Betracht kommenden organischen Substanz eintritt, ist die Diphenylaminprobe. Versetzt man die zu prüfende Lösung mit 2 ccm einer 3 prozentigen Auflösung von Diphenylamin in konzentrierter Schwefelsäure, indem man das Reagens an der Eprouvettenwand herabfließen läßt, so daß es die wässerige Lösung unterschichtet, so entsteht an der Berührungsstelle beider Schichten, wenn Formaldehyd auch nur in minimalen Spuren zugegen ist, eine Smaragdgrünfärbung in Form eines Ringes. Beim Schütteln färbt sich die ganze Flüssigkeit schmutziggrün, da ausfallendes Diphenylamin die Lösung trübt. Man kann das Ausfallen des Niederschlages verhindern, wenn man das Diphenylamin in Alkohol auflöst oder eine alkoholische Formaldehydlösung verwendet und zu der mit dem Reagens versetzten Lösung am Rande der Eprouvette konzentrierte Schwefelsäure zufließen läßt: die ganze Flüssigkeit färbt sich dann smaragdgrün.

Von den quantitativen Methoden zur Bestimmung des Formaldehyds sei zunächst die von Legler genannt, welche sich auf die Fähigkeit des Formaldehyds stützt, mit Ammoniak und Aminen rasch und quantitativ Verbindungen einzugehen. Man fügt eine abgemessene Menge titrierter Ammoniakflüssigkeit zu der Formaldehydlösung hinzu und titriert nach einiger Zeit das unverbrauchte Ammoniak mit gestellter Säure zurück. Das Ammoniak reagiert mit dem Formaldehyd glatt unter Bildung des schwer löslichen Hexamethylentetramin. In meiner kritisch-vergleichenden Nachprüfung der verschiedenen Methoden habe ich die Leglersche Methode in der Abänderung von Smith verwendet: 2 g reines, neutrales NH_4Cl wurden in einer Stöpselflasche in 25 ccm Wasser gelöst und 2,5 g des zu untersuchenden Aldehyds in 2 prozentiger Lösung, respektive ein Pflanzenextrakt hinzugefügt. Dann wurden 25 ccm n-NaOH zufließen gelassen und nach einer halben Stunde der Ammoniaküberschuß durch n-Schwefelsäure gegen Rosolsäure als Indikator zurücktitriert. Der Farbenumschlag ist nicht sehr scharf und die Bestimmungsmethode nur dort verwendbar, wo größere Formaldehydmengen zugegen sind; dasselbe gilt von der Methode von Vanino und Seitter, bei welcher durch Kaliumpermanganat die Oxydation des Aldehyds zur Ameisensäure bewirkt und der Permanganatüberschuß mit Wasserstoffsuperoxyd zurücktitriert wird. Für so kleine Mengen Formaldehyd, wie sie allenfalls in assimilierenden grünen Pflanzenorganen vorgefunden werden können, ist allein die jodometrische Methode von Romijin brauchbar, welche die Eigenschaft des Formaldehyd benutzt, durch Jod in alkalischer Lösung zu Ameisensäure oxydiert zu werden, worauf man nach beendeter Einwirkung mit Salzsäure oder

Schwefelsäure ansäuert und das in Freiheit gesetzte Jod in gewöhnlicher Weise durch Natriumthiosulfatlösung bestimmten Gehaltes bis zur Entfärbung von Stärkekleister zurücktitriert. 1 ccm n-Jodlösung entspricht 15 mg Formaldehyd. Die Meßgefäße müssen besonders sorgfältig geeicht sein. Die $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung wurde mit Kaliumbichromat gestellt; dieselbe enthielt 3,874 g $K_2Cr_2O_7$ im Liter gelöst, für 20 ccm derselben wurden 17 ccm Thiosulfatlösung verbraucht, welche 0,2 g Jod äquivalent sind (12,7 g resublimiertes Jod waren in Jodkalilösung gelöst worden und die Lösung zu einem Liter aufgefüllt). 1 ccm der verwendeten Thiosulfatlösung entspricht 0,00139 g Formaldehyd. Diese Methode konnte mit Vorteil für die Bestimmung auch von Lösungen, respektive Extrakten verwendet werden, die nur 0,002 % Formaldehyd enthielten, nur daß man dann Jodlösung und Thiosulfatlösung entsprechend verdünnter wählte. Wird nun grünen Keimpflanzen in einer hermetisch abgeschlossenen Kulturglocke eine bestimmte Quantität Formollösung nebst der notwendigen Feuchtigkeit geboten, wobei das feste Kultursubstrat sorgfältig vor Eindringen des Formaldehyds geschützt ist, so kann man nach Beendigung des Versuches, während welches aus der Formollösung Formaldehyd in das Luftvolumen der Glocke verdampft war und von den assimilierenden Organen aufgenommen werden konnte, den zurückgebliebenen und den im Wassergefäß gelösten zuzüglich des in der Feuchtigkeit der Pflanzen und der Glockenwände haftenden Formaldehyds bestimmen und durch Vergleich mit der gebotenen Formaldehydmenge den Verbrauch durch die Pflanzen erkennen. Es ist aber zweckmäßig, einen unter denselben Bedingungen verlaufenden Parallelversuch ohne Pflanzen aufzustellen, da die in ein gleichgroßes Luftvolumen unter denselben physikalischen Bedingungen übergehende Formaldehydmenge eine konstante Größe darstellt. Bei dieser Gelegenheit sei eines sehr gut funktionierenden Bewässerungsapparates Erwähnung getan, den S. Baker bei der Bestätigung meiner mit Formaldehyd gewonnenen Erfahrungen (Baker, Effect of formaldehyde on living plants, Annals of Botany 27, 411 [1913]) benützt hat und der sich überhaupt bei längerdauernden Kulturen in hermetisch abgeschlossenen Räumen empfiehlt. Das Glasreservoir W (Fig. 80 a) ist in einen schmalen Auslauf ausgezogen und trägt einerseits das zur feinen Spitze ausgezogene Rohr F, das fallweise zugeschmolzen und aufgebrochen werden kann, anderseits das lange, in eine Kapillare C endigende Rohr G, das in einer für die Standfestigkeit des Apparates zweckmäßigen Weise gebogen ist. Durch Einsenken des Auslaufes in Wasser und Saugen am kurzen Kapillarrohr wird das Reservoir gefüllt, worauf das Rohr zugeschmolzen wird. Nun kann solange kein Wasser das Reservoir verlassen, bis wieder Luft eingedrungen ist. Je nach der Länge und Bohrung der langen Röhre kann die Luft durch die Glaswollekugel Wa bei bestimmter Temperatur früher oder später eindringen, so daß man diese Länge je nach der Dauer des Versuches verschieden wählen muß. Um in 14 Tagen 10 ccm zu entlassen, genügt eine Länge von 50 cm und ein Röhrenlumen von 0,05 mm. Die Glaswolle verhindert das Eindringen von Kondenswasser in die Kapillare, wodurch ihre Funktionsdauer verlängert wird. Immerhin ist es zweckmäßiger, den andern Weg der Wasserzufuhr zu wählen, nämlich den durch die Wassersäule. Bei der abendlichen Abkühlung werden nämlich Luft-

blasen durch das Wasser eingesaugt und am nächsten Morgen, wenn sich die Luft erwärmt, wird Wasser ausgetrieben; so reguliert sich die Wasserzufuhr automatisch nach den Bedürfnissen der Pflanze: an heißen Tagen fließt ihr mehr Wasser zu als an kalten; immerhin kommt auch so nicht mehr Wasser als 15 ccm wöchentlich den Pflanzen bei einer Höhe des Reservoirs von 15 cm und 4 cm Weite zu. Die Zufuhr von Gasen erfolgt am besten durch den Apparat Fig. 80 b, durch den kleine Mengen Gas, z. B. CS_2, der Luft beigemischt werden können, die zu den Pflanzen gelangt. Der Kolben wird mit der betreffenden Flüssigkeit gefüllt (durch Erwärmen und Abkühlen) und dann der Luftstrom in der Richtung der Pfeile der T-förmigen Glasröhre und Kapillare *C* entlang geführt; die Luft beladet sich im Kolben mit Dampf, der sich aber in der Kapillare verteilt, so daß der Dampfdruck am Ende derselben stets Null ist, wodurch auch die relative der Luft beigemengte Dampfmenge stets gleich bleibt.

Bei Anwesenheit anderer Aldehyde außer Formaldehyd versetzt man den Extrakt (Destillat) mit Zyankalilösung 1 : 150, gießt das Gemisch in $\frac{n}{10}$ Silbernitratlösung, die mit wenig HNO_3 angesäuert ist, und titriert den Überschuß mit gestellter Rhodanammonlösung zurück: 1 Molekül Formaldehyd bindet 1 Molekül Zyankali.

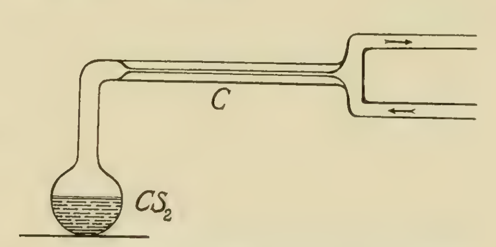


Fig. 80 a. Automatischer Bewässerungsapparat nach Miss Baker.

Fig. 80 b. Apparat nach Miss Baker zur gleichmäßigen Diffusionsverteilung von Dämpfen im Luftstrom.

Von qualitativen und quantitativen Methoden sei schließlich noch die Kondensation von Formaldehyd mit *p*-Dihydrazin-*o*-diphenyl genannt, welche selbst mit sehr verdünnten Formollösungen (1 : 5000) eintritt; erst bei einer Verdünnung von 1 : 8000 wird die Probe unsicher. Mit Formollösungen 1 : 5000 tritt beim Vermischen mit einigen Tropfens salzsauren Diphenyldihydrazins beim Erwärmen sofort hellgelbe Färbung ein, der nach einigen Minuten eine kristallinische Abscheidung folgt, während bei anderen Aldehyden oder Ketonen keine Reaktion eintritt. Zum mindesten sind die mit anderen Aldehyden entstehenden Produkte in Alkohol leicht löslich; wenn also die Anwesenheit solcher zu vermuten ist, setzt man der zu prüfenden Lösung das doppelte Volumen Alkohol zu. Zur Prüfung fügt man zur vollkommen farblosen (eventuell durch Tierkohle filtrierten) Lösung des Reagens bei 60^0 langsam unter Rühren die zu untersuchende Flüssigkeit zu. Bei Gegenwart von Formaldehyd fällt alsbald ein voluminöser hell-

gelber Niederschlag, der sich rasch absetzt, an der Pumpe abgesaugt und nacheinander mit viel heißem Wasser, Alkohol, Azeton, absolutem Alkohol und wasserfreiem Äther gewaschen wird. Nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure kann man den Niederschlag zur Wägung bringen und so den Formaldehyd quantitativ bei Gegenwart anderer Aldehyde und Ketone bestimmen. Für den bloßen qualitativen Nachweis ist die Verwendung von reinem, kristallisiertem Hydrazinreagens, wie es Neuberg, dem diese ausgezeichnete Methode zu danken ist, für quantitative Bestimmungen vorschreibt, unnötig. Man löst für solche Fälle eine Messerspitze Benzidin in Salzsäure, versetzt nach dem Abkühlen unter der Wasserleitung mit Kalinitrit und fügt das entstandene Diazochlorid zu einer Lösung von Zinnchlorür in rauchender Salzsäure. Nach kurzem Stehen kocht man mit Tierkohle auf. Das klare Filtrat enthält genügend Hydrazinchlorhydrat zum Gelingen der Probe, doch muß man im Auge behalten, daß mit solchen nicht aus ganz reinem Reagens bereiteten Lösungen die Formaldehydverbindung manchmal eine orangegelbe Färbung annimmt.

Äthylalkohol: Von den Alkoholen ist dieser der einzige, dessen Bestimmung allenfalls beim Arbeiten mit höheren Pflanzen als Produkt der intramolekularen Atmung derselben unter Luftausschluß in Betracht kommt. Zum qualitativen Nachweis des Alkohols destilliert man die zu untersuchende Flüssigkeit und verwendet das Destillat zum Alkoholnachweis; man darf annehmen, daß nach Abdestillieren von zwei Dritteln der Lösung sämtlicher Alkohol ins Destillat übergegangen ist. Wenn nur sehr wenig Alkohol zu erwarten ist, wiederholt man mit dem Destillat die Destillation noch einmal, indem man wieder zwei Drittel abdestilliert. Mit dem schließlich erhaltenen kleinen Flüssigkeitsvolumen führt man am besten die Verwandlung des Alkohols in den Äthylester der Nitrobenzoesäure nach Abscheidung des Alkohols aus dem Destillat mit entwässertem Kalikarbonat aus. Man fängt beim Destillieren des durch Zusatz von Kalikarbonat erhaltenen Öles die zwischen 65—85 ⁰ übergehende Fraktion gesondert auf oder verwendet das letzte Destillat selbst zur Überführung in den Ester. Man erwärmt mit Nitrobenzoylchlorid und kühlt dann ab. Bei Anwesenheit von Alkohol scheiden sich nach einiger Zeit Kristalle des Nitrobenzoesäure-Äthylesters ab, die nach dem Umkristallisieren aus Methylalkohol den Schmelzpunkt 57 ⁰ zeigen. Kleine Mengen von Alkohol (bis zur Verdünnung 1 : 2000) können durch die Liebensche Jodoformprobe erkannt werden, die allerdings nicht eindeutig ist, sondern auch mit Azeton, Azetaldehyd und anderen organischen Verbindungen positiv ausfällt. Man erwärmt die Flüssigkeit in einer Eprouvette und trägt einige Körnchen Jod ein, versetzt dann tropfenweise mit so viel verdünnter Natronlauge, bis die Flüssigkeit farblos geworden ist; bei nicht zu großer Verdünnung findet nun sofort eine Trübung statt, das Jodoform fällt in zitronengelben Kristallen aus. Die Reaktion findet langsamer auch in der Kälte statt, ein Überschuß von Kali ist zu vermeiden. Nach dem Jodoformgeruch allein darf man nicht urteilen, da schon Lauge und Jod einen eigenartigen Geruch erzeugen, der schwachen Jodoformgeruch verdecken oder vortäuschen kann. Am zweckmäßigsten verfährt man so, daß man die zu prüfende Flüssigkeit mit 5 Tropfen 10prozentiger Lauge versetzt, auf 40—50 ⁰ erwärmt (nicht höher, weil sonst Alkohol verdampft), und nun so lange unter Umrühren eine mit Jod gesättigte Lösung von Jodkali hinzufügt,

bis die Flüssigkeit gelbbraun gefärbt ist. Der Überschuß von Jod wird durch Kalilauge, die man mit dem Glasstabe tropfenweise hinzufügt, entfernt. Beim Stehen (bisweilen erst nach 24 Stunden, mitunter nicht am Boden der Eprouvette, sondern auf der Flüssigkeit schwimmend) setzt sich das Jodoform in sechsstrahligen, unter dem Mikroskop deutlich erkennbaren Sternen ab. Eine weitere Methode, Alkohol nachzuweisen, besteht darin, daß man in die zu prüfende Lösung etwas Platinschwarz einträgt und unter Erwärmen auf 40 ^{0} einige Zeit schüttelt. Dann wird filtriert und die jetzt Essigsäure enthaltende Flüssigkeit mit einem Tropfen Kalilauge versetzt, auf dem Wasserbade eingedampft und der trockene Rückstand mit etwas Arsentrioxyd in einem Glasröhrchen erhitzt, wobei der ekelerregende Geruch nach Kakodyloxyd auftritt. Eine sehr empfindliche Probe ist ferner das Zufügen von etwas Benzoylchlorid zu der zu untersuchenden Flüssigkeit und Schütteln damit. Es entsteht Äthylbenzoat, das sich im überschüssigen Benzoylchlorid auflöst. Schüttelt man jetzt mit einer Lösung von Pottasche, so wird das Benzoylchlorid sofort gelöst, das Äthylbenzoat aber nur wenig angegriffen, und gibt sich durch seinen charakteristischen angenehmen Geruch zu erkennen; noch 1 Teil Alkohol in 2500 Teilen Wasser ist so zu erkennen. Charakteristisch ist auch bei Gegenwart von Alkohol die karminrote Färbung, mit der sich ein hineingeworfenes Körnchen Fuchsin auflöst.

Für die quantitative Bestimmung des Alkohols kommt hauptsächlich die Ermittelung des spezifischen Gewichts des Destillates in Betracht, das mit dem Aräometer oder Pyknometer oder bei kleinen in Betracht kommenden Alkoholmengen am besten durch vergleichende Wägung bestimmt werden kann. P a l l a d i n und K o s t y t s c h e w gehen in der Weise vor, daß sie das Versuchsmaterial in einen geräumigen Rundkolben bringen, mit noch zirka 500 ccm destillierten Wassers versetzen und mehrfacher Destillation unterwerfen, wobei jedesmal nicht weniger als die Hälfte der Flüssigkeit in die Vorlage übergehen muß. Bei der ersten Destillation wurde immer eine gewisse Menge Toluol aus dem Versuchsrezipienten im Destillate gefunden, welches zum Sterilerhalten des Versuches hineingegeben worden war; das Toluol läßt sich aber von der übrigen Flüssigkeit leicht im Scheidetrichter abtrennen. Die zweite Destillation erfolgt aus schwach saurer, die dritte aus schwach alkalischer Lösung. Zur Ansäuerung des ersten Destillates wurde Weinsäure, zur Alkalisierung des zweiten Natronkarbonat verwendet. Ohne Berücksichtigung dieser Vorsichtsmaßregeln erhält man kaum ein neutrales Destillat, meistens enthält es dann eine auf Kongorot alkalisch reagierende und durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanz. Die Menge des gebildeten Alkohols wurde aus dem spezifischen Gewichte des vierten oder fünften Destillates ermittelt. Das spezifische Gewicht wurde mit Hilfe eines genauen, mehr als 30 ccm fassenden Pyknometers bestimmt. Sämtliche Füllungen des Pyknometers wurden bei 15,5 ^{0} C ausgeführt. Gegen das Übergehen von flüchtigen, bei physiologischen Prozessen, die zur Alkoholbildung führen, immer gleichzeitig mitgebildeten organischen Säuren in das Destillat muß man sich deswegen schützen, weil diese das spezifische Gewicht des Destillates verändern würden, während das durch die höheren, eventuell in Spuren gebildeten Homologen des Äthylalkohols nicht der Fall ist. Zur Eichung des Pyknometers kann man in der Weise vorgehen, daß man ein 50 ccm von 15 ^{0} C

fassendes Kölbchen mit genau gewogenen 50 g Wassers beschickt und den Flüssigkeitsmeniskus genau mit einer Feile markiert. Sowohl zur Markierung als auch zur Bestimmung stellt man das Kölbchen in Wasser von genau 15 ^{0} C bis zum Halse so lange ein, daß man annehmen kann, die Flüssigkeit im Kölbchen habe diese Temperatur angenommen. Die genaue Einhaltung der Temperatur ist conditio sine qua non für die Richtigkeit der Ermittlung des spezifischen Gewichts. Stehen größere Mengen der Flüssigkeit zur Verfügung, so füllt man davon 150 ccm in den Destillationskolben, setzt etwas Tannin zu, um das Schäumen zu verhindern, leitet die Dämpfe am besten zur vollkommenen Kondensation durch eine gläserne Kühlschlange und fängt 100 ccm in einem Vorlagekölbchen auf, das bei 100 ccm eine Marke besitzt. Von dieser Flüssigkeit, deren Gewicht man kennt, wenn man das leere und das gefüllte Vorlagekölbchen wägt, füllt man nach gutem Durchmischen 25—60 ccm in das Pyknometer, das man vorher geeicht hat. Von diesem ist bekannt: 1. das Gewicht, 2. die Menge destillierten Wassers von 15,5 ^{0} C, die es bis zur Marke faßt. Das Pyknometer wird mit dem Destillat durch einen in ein feines Röhrchen ausgezogenen Trichter bis etwas über die Marke gefüllt, dann in das temperierte Wasser eingestellt, worauf man, ohne das Pyknometer aus dem Wasser zu nehmen, mit einem Streifen Filtrierpapier so viel Flüssigkeit herausnimmt, daß sie gerade nur bis zur Marke reicht, nimmt das Pyknometer heraus, trocknet es ab und wägt es. Das Gewicht des darin enthaltenen Destillates, dividiert durch das Gewicht des gleichen Volumens reinen Wassers gibt das spezifische Gewicht, aus dem man in den nachstehenden W i n d i s c h - schen Tabellen den Alkoholgehalt erfährt. Steht nur eine kleine Menge Flüssigkeit zu Gebote, so destilliert man nur 50 ccm und fängt diese in einem Kölbchen mit Marke bei 35 ccm und wählt ein Pyknometer von 25—30 ccm Inhalt. Hätte man aus 150 ccm Flüssigkeit 102 g eines Destillates vom spezifischen Gewicht 0,9809 bei 15,5 ^{0} C erhalten, so enthalten nach den Tabellen 100 g Destillat 12,36 g absoluten Alkohol, demnach 102 g soviel wie 12,609 g. Diese Alkoholmenge entspricht der in 150 ccm Flüssigkeit enthalten gewesenen; demnach enthalten diese 8,4 % Alkohol. Ist a das Gewicht des leeren, b das Gewicht des bis zur Marke mit Wasser gefüllten Pyknometers, c das Gewicht des mit Destillat gefüllten, so ist dessen spezifisches Gewicht, bezogen auf Wasser von 15,5 ^{0} C, $s = \frac{c - a}{b - a}$.

Aus sehr verdünnten Lösungen kann man nach N i c l o u x den Alkohol folgendermaßen bestimmen: In eine Eprouvette bringt man 5 ccm der zu untersuchenden alkoholischen Lösung, die im Maximum 1 : 500 stark sein darf, fügt dazu 0,1—0,2 ccm einer 1,9 prozentigen Lösung von Kaliumbichromat und reine Schwefelsäure von 60 ^{0} Bé (4,5—6 ccm); die Lösung erwärmt sich stark, es tritt Farbenumschlag ein und das Bichromat wird entfärbt. Man läßt aus der Bürette Bichromat zufließen, schüttelt um und kocht, bis die Färbung von Grünblau in Gelbgrün umschlägt, und notiert die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Bichromat. Hat man mehr als 2 ccm Bichromat gebraucht, so enthält die Lösung mehr als 2 $^0/_{00}$ Alkohol und muß entsprechend verdünnt werden, damit der Farbenumschlag scharf ist. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Bichromat zeigt schon genau den Alkoholgehalt an; zur Bestätigung setzt man zu einer Parallelprobe

Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.	Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.	Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.
1,0000	0,00	0,00	0,9940	3,31	4,14	0,9880	7,08	8,81
0,9999	0,05	0,07	0,9939	3,37	4,22	0,9879	7,15	8,89
0,9998	0,11	0,13	0,9938	3,43	4,29	0,9878	7,22	8,98
0,9997	0,16	0,20	0,9937	3,49	4,36	0,9877	7,29	9,06
0,9996	0,21	0,27	0,9936	3,55	4,43	0,9876	7,36	9,15
0,9995	0,26	0,33	0,9935	3,60	4,51	0,9875	7,42	9,23
0,9994	0,32	0,40	0,9934	3,66	4,58	0,9874	7,49	9,32
0,9993	0,37	0,47	0,9933	3,72	4,65	0,9873	7,56	9,40
0,9992	0,42	0,53	0,9932	3,78	4,73	0,9872	7,63	9,88
0,9991	0,48	0,60	0,9931	3,84	4,80	0,9871	7,70	9,57
0,9990	0,53	0,67	0,9930	3,90	4,88	0,9870	7,77	9,66
0,9989	0,58	0,73	0,9929	3,96	4,95	0,9869	7,84	9,74
0,9988	0,64	0,80	0,9928	4,02	5,03	0,9868	7,91	9,83,
0,9987	0,69	0,87	0,9927	4,08	5,10	0,9867	7,98	9,91
0,9986	0,74	0,93	0,9926	4,14	5,18	0,9866	8,05	10,00
0,9985	0,80	1,00	0,9925	4,20	5,25	0,9865	8,12	10,09
0,9984	0,85	1,07	0,9924	4,26	5,33	0,9864	8,19	10,17
0,9983	0,90	1,14	0,9923	4,32	5,40	0,9863	8,26	10,26
0,9982	0,96	1,20	0,9922	4,39	5,48	0,9862	8,33	10,35
0,9981	1,01	1,27	0,9921	4,45	5,55	0,9861	8,41	10,43
0,9980	1,06	1,34	0,9920	4,51	5,63	0,9860	8,48	10,52
0,9979	1,12	1,41	0,9919	4,57	5,70	0,9859	8,55	10,61
0,9978	1,17	1,48	0,9918	4,63	5,78	0,9858	8,62	10,70
0,9977	1,23	1,54	0,9917	4,69	5,86	0,9857	8,69	10,79
0,9976	1,28	1,61	0,9916	4,75	5,93	0,9856	8,76	10,88
0,9975	1,34	1,68	0,9915	4,81	6,01	0,9855	8,84	10,96
0 9974	1,39	1,75	0,9914	4,88	6,09	0,9854	8,91	11,06
0,9973	1,45	1,82	0,9913	4,94	6,16	0,9853	8,98	11,14
0,9972	1,50	1,88	0,9912	5,00	6,24	0,9852	0,06	11,23
0,9971	1,56	1,95	0,9911	5,06	6,32	0,9851	9,13	11,32
0,9970	1,61	2,02	0,9910	5,13	6,40	0,9850	9,20	11,41
0,9969	1,67	2,09	0,9909	5,19	6,47	0,9849	9,28	11,50
0,9968	1,72	2,16	0,9908	5,25	6,55	0,9848	9,35	11,59
0,9967	1,78	2,23	0,9907	5,32	6,63	0,9847	9,42	11,68
0,9966	1,83	2,30	0,9906	5,38	6,71	0,9846	9,50	11,77
0,9965	1,89	2,37	0,9905	5,44	6,79	0,9845	9,57	11,86
0,9964	1,94	2,44	0,9904	5,51	6,86	0,9844	9,65	11,95
0,9963	2,00	2,51	0,9903	5,57	6,94	0,9843	9,72	12,05
0,9962	2,05	2,58	0,9902	5,63	7,02	0,9842	9,80	12,14
0,9961	2,11	2,65	0,9901	5,70	7,10	0,9841	9,87	12,23
0,9960	2,17	2,72	0,9900	5,76	7,18	0,9840	9,94	12,32
0,9959	2,22	2,79	0,9899	5,83	7,26	0,9839	10,02	12,41
0,9958	2,28	2,86	0,9898	5,89	7,34	0,9838	10,10	12,50
0,9957	2,34	2,93	0,9897	5,96	7,42	0,9837	10,17	12,59
0,9956	2,39	3,00	0,9896	6,02	7,50	0,9836	10,25	12,69
0,9955	2,45	3,07	0,9895	6,09	7,58	0,9835	10,32	12,78
0,9954	2,50	3,14	0,9894	6,15	7,66	0,9834	10,40	12,88
0,9953	2,56	3,21	0,9893	6,22	7,74	0,9833	10,48	12,97
0,9952	2,62	3,28	0,9892	6,28	7,82	0,9832	10,55	13,06
0,9951	2,69	3,35	0,9891	6,35	7,90	0,9831	10,63	13,16
0,9950	2,73	3,42	0,9890	6,41	7,99	0,9830	10,71	13,25
0,9949	2,79	3,49	0,9889	6,48	8,07	0,9829	10,78	13,34
0,9948	2,84	3,56	0,9888	6,55	8,15	0,9828	10,86	13,44
0,9947	2,90	3,64	0,9887	6,61	8,23	0,9827	10,94	13,53
0,9946	2,96	3,71	0,9886	6,68	8,31	0,9826	11,01	13,63
0,9945	3,02	3,78	0,9885	6,75	8,40	0,9825	11,09	13,72
0,9944	3,08	3,85	0,9884	6,81	8,48	0,9824	11,17	13,82
0,9943	3,14	3,93	0,9883	6,88	8,56	0,9823	11,25	13,91
0,9942	3,19	4,00	0,9882	6,95	8,64	0,9822	11,33	14,01
0,9941	3,25	4,07	0,9881	7,02	8,73	0,9821	11,40	14,10

Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.	Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.	Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.
0,9820	11,48	14,20	0,9760	16,40	20,15	0,9700	21,32	26,03
0,9819	11,56	14,29	0,9759	16,48	20,25	0,9699	21,40	26,13
0,9818	11,64	14,39	0,9758	16,57	20,35	0,9698	21,47	26,22
0,9817	11,72	14,48	0,9757	16,65	20,45	0,9697	21,55	26,31
0,9816	11,80	14,58	0,9756	16,73	20,55	0,9696	21,63	26,41
0,9815	11,88	14,68	0,9755	16,82	20,65	0,9695	21,71	26,50
0,9814	11,96	14,77	0,9754	16,90	20,75	0,9694	21,79	26,59
0,9813	12,04	14,87	0,9753	16,98	20,86	0,9693	21,87	26,69
0,9812	12,12	14,97	0,9752	17,07	20,96	0,9692	21,94	26,78
0,9811	12,20	15,07	0,9751	17,15	21,06	0,9691	22,02	26,87
0,9810	12,28	15,16	0,9750	17,23	21,16	0,9690	22,10	26,96
0,9809	12,36	15,26	0,9749	17,32	21,26	0,9689	22,18	27,05
0,9808	12,44	15,36	0,9748	17,40	21,36	0,9688	22,25	27,14
0,9807	12,52	15,46	0,9747	17,49	21,46	7,9687	22,33	27,24
0,9806	12,60	15,55	0,9746	17,57	21,56	0,9686	22,41	27,33
0,9805	12,68	15,65	9,0745	17,65	21,66	0,9685	22,49	27,42
0,9804	12,76	15,75	0,9744	17,73	21,76	0,9684	22,56	27,51
0,9803	12,84	15,85	0,9743	17,82	21,86	0,9683	22,64	27,60
0,9802	12,92	15,95	0,9742	17,90	21,96	0,9682	22,72	27,69
0,9801	13,00	16,04	0,9741	17,98	22,06	0,9681	22,79	27,78
0,9800	13,08	16,14	0,9740	18,07	22,16	0,9680	22,87	27,87
0,9799	13,16	16,24	0,9739	18,15	22,26	0,9679	22,95	27,95
0,9798	13,25	16,34	0,9738	18,23	22,35	0,9678	23,02	28,05
0,9797	13,33	16,44	0,9737	18,32	22,45	0,9677	23,10	28,14
0,9796	13,41	16,54	0,9736	18,40	22,55	0,9676	23,17	28,23
0,9795	13,49	16,64	0,9735	18,48	22,65	0,9675	23,25	28,32
0,9794	13,57	16,74	0,9734	18,56	22,75	0,9674	23,32	28,41
0,9793	13,66	16,84	0,9733	18,65	22,85	0,9673	23,40	28,50
0,9792	13,74	16,94	0,9732	18,73	22,95	0,9672	23,47	28,59
0,9791	13,82	17,04	0,9731	18,81	23,05	0,9671	23,55	28,67
0,9790	13,90	17,14	0,9730	18,89	23,14	0,9670	23,63	28,76
0,9789	13,98	17,24	0,9729	18,98	23,24	0,9669	23,70	28,85
0,9788	14,07	17,34	0,9728	19,06	23,34	0,9668	23,77	28,94
0,9787	14,15	17,44	0,9727	19,14	23,44	0,9667	23,85	29,03
0,9786	14,23	17,54	0,9726	19,22	23,54	0,9666	23,92	29,11
0,9785	14,32	17,64	0,9725	19,30	23,63	0,9665	24,00	29,20
0,9784	14,40	17,74	0,9724	19,39	23,73	0,9664	24,07	29,29
0,9783	14,48	17,84	0,9723	19,47	23,83	0,9663	24,15	29,36
0,9782	14,56	17,94	0,9722	19,55	23,93	0,9662	24,22	29,46
0,9781	14,65	18,04	0,9721	19,63	24,02	0,9661	24,29	29,55
0,9780	14,73	18,14	0,9720	19,71	24,12	0,9660	24,37	29,64
0,9779	14,81	18,24	0,9719	19,79	24,22	0,9659	24,44	29,72
0,9778	14,90	18,34	0,9718	19,87	24,32	0,9658	24,51	29,81
0,9777	14,98	18,44	0,9717	19,95	24,41	0,9657	24,59	29,89
0,9776	15,06	18,54	0,9716	20,04	24,51	0,9656	24,66	29,98
0,9775	15,15	18,64	0,9715	20,12	24,60	0,9655	24,73	30,06
0,9774	15,23	18,74	0,9714	20,20	24,70	0,9654	24,80	30,15
0,9773	15,31	18,84	0,9713	20,28	24,80	0,9653	24,88	30,23
0,9772	15,40	18,94	0,9712	20,36	24,89	0,9652	24,95	30,32
0,9771	15,48	19,04	0,9711	20,44	24,99	0,9651	25,02	30,40
0,9770	15,56	19,14	0,9710	20,52	25,08	0,9650	25,09	30,49
0,9769	15,65	19,24	0,9709	20,60	24,18	0,9649	25,17	30,57
0,9768	15,73	19,34	0,9708	20,68	25,27	0,9648	25,24	30,66
0,9767	15,81	19,44	0,9707	20,76	25,37	0,9647	25,31	30,74
0,9766	15,90	19,55	0,9706	20,84	25,47	0,9646	25,38	30,82
0,9765	15,98	19,65	0,9705	20,92	25,56	0,9645	25,45	30,91
0,9764	16,06	19,75	0,9704	21,00	25,66	0,9644	25,52	30,99
0,9763	16,15	19,85	0,9703	21,08	25,75	0,9643	25,59	31,07
0,9762	16,23	19,95	0,9702	21,16	25,84	0,9642	25,66	31,16
0,9761	16,32	20,05	0,9701	21,24	25,94	0,9641	25,74	31,24

Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.	Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.	Spez. Gewicht des Destillates	Alkohol Gew.-Proz.	Alkohol Vol.-Proz.
0,9640	25,81	31,32	0,9633	26,30	31,89	0,9626	26,78	32,45
0,9639	25,88	31,41	0,9632	26,37	31,98	0,9625	26,85	32,54
0,9638	25,95	31,49	0,9631	26,44	32,06	0,9624	26,92	32,62
0,9637	26,02	31,57	0,9630	26,57	32,14	0,9623	26,99	32,70
0,9636	26,09	31,65	0,9629	26,57	32,22	0,9622	27,05	32,78
0,9635	26,16	31,73	0,9628	26,64	32,30	0,9621	27,12	32,85
0,9634	26,23	31,81	0,9627	26,71	32,38	0,9620	27,19	32,93

von 5 ccm der Probelösung um 0,1 ccm Bichromat weniger, setzt Schwefelsäure zu und kocht auf. Die Lösung müßte nun noch blaugrün gefärbt sein; in einer dritten Probe nimmt man 0,1 ccm Bichromat mehr, kocht auf, und die Lösung muß gelbgrün gefärbt sein. Dann ist die zuerst gefundene Zahl richtig. Ist aber die Probe bei 0,1 ccm Bichromat mehr noch blaugrün, so fügt man noch 0,1 ccm Bichromat hinzu, worauf der Umschlag eintritt. Ist n die Zahl der abgelesenen Kubikzentimeter Bichromat, so ist der Alkohol in Kubikzentimetern pro Kubikzentimeter der untersuchten Lösung $= \frac{n}{1000}$. Ist die Alkoholmenge unter 1 $^0/_{00}$, so bedient man sich einer Bichromatlösung von 0,95 %. Zur Sicherheit stellt man sechs Paar Vergleichsröhrchen her, in denen man z. B. Alkohollösungen von 2, 1,5, 1, 0,8, 0,5, 0,2 $^0/_{00}$ verwendet, die 2, 1,5, 1, 0,8, 0,5, 0,2 ccm der 1,9 prozentigen Bichromatlösung bis zur Gelbgrünfärbung verbrauchen. Bei unter 1 $^0/_{00}$ igen Lösungen von Alkohol nimmt man die halbverdünnte Bichromatlösung, von der man doppelt soviel Kubikzentimeter verbraucht. Man nimmt um 0,1 ccm Bichromat weniger, um die gelbgrüne Farbe noch bestehen zu lassen. Bei der Probe vergleicht man dann die Färbung der zu untersuchenden Lösung nach dem Umschlag in Gelbgrün mit der am nächsten liegenden Färbung der Vergleichslösung. Die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Bichromat gibt sofort den Alkoholprozentgehalt, die Fehlergrenze beträgt weniger als 8 %, der absolute Fehler liegt bei 0,0001 ccm Alkohol bei Lösungen von 1—2 $^0/_{00}$ und bei 0,0002 ccm bei schwächeren Lösungen. H. Pringsheim empfiehlt die Methode nach seinen Erfahrungen ebenfalls, da auch der Farbenumschlag leicht zu erkennen ist.

XIII. Alkaloide[1].

Zum Nachweis der Alkaloide dienen 1. gewisse Reagenzien, welche durch das Hervorrufen von Niederschlägen die Anwesenheit von Alkaloiden anzeigen und 2. solche, welche durch die Entstehung bestimmter Färbungen mitunter auch die Individualität des vorhandenen Alkaloids erkennen lassen. Solche Fällungsreagenzien, welche zumeist schon mit sehr verdünnten Alkaloidlösungen reagieren, sind:

Phosphormolybdänsäure, deren Fällungen weiß bis gelb sind und bei manchen Alkaloiden auf Zusatz von Ammoniak blau werden. Die Niederschläge sind flockig, voluminös und werden manch-

[1]) Entnommen aus meinem gleichnamigen Beitrage im 6. Bande der Abderhaldenschen Biochem. Arbeitsmethoden.

mal im Laufe der Zeit kristallinisch; in verdünnten Säuren unlöslich, werden sie bei Zusatz von Alkalien zersetzt. Zur Herstellung der Phosphormolybdänsäure geht man folgendermaßen vor: 150 g kristallisiertes molybdänsaures Ammon $(NH_4)_6Mo_7O_{24} + 4\,H_2O$ werden in 1 Liter Wasser gelöst und die Auflösung allmählich in 1 Liter Salpetersäure (spezifisches Gewicht 1,2) gegossen. Zu dieser Mischung wird eine Lösung von Natriumphosphat so lange hinzugegeben, bis kein Niederschlag mehr entsteht (unter schwachem Erwärmen), dann filtriert man den hellgelben, schweren, pulverigen Niederschlag von Ammonium-Phosphormolybdat $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12\,MoO_3$ ab, wäscht mit Wasser nach und suspendiert in einer Sodalösung. Nachdem Lösung eingetreten ist, wird am Wasserbad eingedampft und die Ammonsalze durch gelindes Glühen verjagt. Zweckmäßig befeuchtet man wiederholt mit Salpetersäure und glüht wieder. Schließlich wird der Glührückstand in Wasser, dem ein wenig Salpetersäure zugefügt wurde, gelöst, so daß auf einen Teil Rückstand zehn Teile Wasser kommen; nach dem Filtrieren ist das Reagens fertig.

W i s m u t j o d i d j o d k a l i u m: Die mit Schwefelsäure angesäuerten Alkaloidlösungen liefern orangerote, amorphe Niederschläge (Solanin, Digitalin, Veratrin, Narcein werden nicht gefällt).

Wismutjodid BiJ_3 wird in einer gesättigten Jodkalilösung in gelinder Wärme gelöst und noch soviel Jodkalilösung hinzugefügt, als zur Lösung des BiJ_3 verwendet wurde.

Da nicht alle Alkaloide mit jedem der genannten Reagenzien gleich empfindlich reagieren, ist es zweckmäßig, mit beiden die Probe anzustellen.

P e r c h l o r s ä u r e hat sich bei der Fällung von Alkaloiden, und besonders auch bei der Trennung von Strychnin, Bruzin einerseits, Berberin, Hydrastin andrerseits bewährt [1]).

P i k r o l o n s ä u r e , 4-Nitro-1-p-nitrophenyl-3-methylpyrazolon

```
          N · C6H4 · NO2
     N ⁄      C · OH
H3C · C ——— C · NO2
```

liefert schwer lösliche Salze und kann auch zur Isolierung und näheren Bestimmung der Alkaloide dienen. Die Darstellung der Pikrolonsäure, welche mit Vorteil auch zur quantitativen Alkaloidbestimmung verwendet wird, erfolgt nach K n o r r und B r a n (Dissertation, Jena 1899) und K n o r r und Z e i n e (Dissertation, Jena 1906) folgendermaßen: 90 ccm reiner Salpetersäure von 99,5 % werden mit Wasser unter Kühlung auf 100 ccm zu einer 90prozentigen Säure vom spezifischen Gewicht 1,495 verdünnt; 600 ccm dieser Säure werden in einen großen Erlenmeyerkolben von 2—3 Liter Inhalt gefüllt und von außen gut durch Eiswasser gekühlt. In diese Säure gibt man 200 g Phenylmethylpyrazolon nach und nach in Portionen von zirka 1 g hinein. Das Phenylmethylpyrazolon löst sich in der Säure mit dunkelbrauner Farbe und das jedesmalige Eingeben von Substanz ist von einer kräftigen Reaktion begleitet, deren Verlauf man unter tüchtigem Umschütteln abwartet, bevor man frische Substanz zugibt. Auf diese Weise kann man die Temperatur leicht zwischen 10 und 15 ⁰ halten. Ist die Säure (nach Zusatz von etwa 100 g) mit Phenylmethylpyrazolon gesättigt,

[1]) G o m b e r g und C o n e , Liebigs Annalen **376**, 194 (1910); K. A. H o f m a n n und Mitarbeiter, Ber. d. d. chem. Ges. **43**, 2624 (1910); **44**, 1766 (1911); s. a. Alkaloidchemie in den Jahren 1907—1911 von J. S c h m i d t , Stuttgart 1911.

so beginnt eine reichliche Kristallisation. Doch kann man bei häufigem Umschütteln unbeschadet weiter Phenylmethylpyrazolon zugeben und so mit 600 ccm HNO_3 von 90 % zirka 200 g Phenylmethylpyrazolon nitrieren. Die Kristallmasse wird von der Mutterlauge durch Absaugen über Glaswolle befreit, zuerst mit schwächerer Salpetersäure und dann mit Wasser nachgewaschen, bis das Waschwasser keine saure Reaktion mehr zeigt. Man erhält so das Trinitrophenylmethylpyrazolon in groben, würfelartigen Kristallen von gelbbrauner Farbe. Das fein zerriebene Rohprodukt wird zum Zwecke der Verseifung mit der sechsfachen Menge 33prozentiger Essigsäure auf dem Wasserbade unter fortwährendem Umschütteln bis auf 60 ° erwärmt. Die in der Flüssigkeit suspendierten gelbbraunen Kristalle färben sich nach und nach gelbgrünlich und das Rohprodukt verschwindet, während eine flockige Kristallmasse die ganze Flüssigkeit erfüllt. Nach 20—40 Minuten ist die Verseifung vollendet. Man läßt die Reaktionsmasse erkalten, filtriert und wäscht mit Wasser aus. Die Reinigung der erhaltenen rohen Pikrolonsäure geschieht durch das Natriumsalz. Das Verseifungsprodukt wird in Sodalösung zerrieben. Die Pikrolonsäure wandelt sich unter Entwicklung von Kohlensäure sofort in das gelbe Natriumsalz um; ist alles umgesetzt, so preßt man die Mutterlauge von den Kristallen ab. Aus verdünntem Alkohol 1 : 3 läßt sich das Salz gut umkristallisieren. Man erhält es in feinen gelben Nädelchen, die konzentrisch gruppiert sind. Das Natriumsalz läßt sich leicht zerlegen, wenn man es mit 20prozentiger HCl erwärmt. Die Pikrolonsäure scheidet sich als gelbes, mehliges Pulver ab, das man nach dem Absaugen tüchtig mit Wasser nachwäscht.

Kaliumquecksilberjodid (Mayers Reagens) gibt mit den meisten Alkaloiden weiße oder gelbliche, meist amorphe Niederschläge, die nach 24 Stunden deutlich kristallinisch werden. Besonders zum Nachweis von Nikotin und Koniin geeignet. 13,5 g HgJ und 49,8 g JK werden zu 1 Liter Wasser gelöst. Die für quantitative Zwecke verwendete Mayersche Lösung ist eine $\frac{n}{20}$ Lösung und enthält 6,775 g $HgCl_2$ und 25 g KJ auf 1 Liter.

Aromatische Nitroverbindungen[1]), besonders Nitrophenole, haben sich als Alkaloidfällungsmittel bewährt und geben manchmal so charakteristische Niederschläge, daß sie zur Identifizierung des Alkaloids dienen können. In den weitaus meisten Fällen erfolgen die Niederschläge sofort. In der folgenden der genannten Arbeit entnommenen Tabelle sind die Fällungsgrenzen durch zwei Zahlenwerte bestimmt, von welchen die kleinere den Verdünnungsgrad anzeigt, bei welchem innerhalb einer Minute noch eine deutlich sichtbare Fällung eintrat, während die größere Zahl die Verdünnung anzeigt, bei welcher keine Reaktion mehr erfolgt. Eintretende Kristallbildung ist durch einen Stern bezeichnet (S. 276, 277)[2]).

Zur Identifizierung eines Alkaloids können die Farbenreaktionen mitunter viel beitragen, da manche von ihnen für bestimmte Alkaloide charakteristisch sind. Sie sind ferner ebenso

[1]) Rosenthaler und Görner, Zeitschr. f. analyt. Chemie 49, 340 (1910).
[2]) Indessen treten mit Trinitrophenol und Hexanitrodiphenylamin auch bei Strychnin und Bruzin (die nicht mit Sternchen bezeichnet sind) Kristallbildungen ein.

	m-Nitrophenol	p-Nitrophenol	Dinitrophenol	Dinitrokresol	Dinitronaphthol	Dinitronaphtholsulfosäure	Dinitroanthrachrysondisulfosäure	Trinitrophenol
Akonitin	2 000—2 500	1 400—1 500	—	—	—	100—150	400—500	1 900—2 000
Alypin	1 800—1 900	1 400—1 500	—	—	—	100—150	2 500—3 000	5 000—6 000*
Antipyrin	200—250	150—200	—	—	—	—	—	300—350*
Arekolin	—	—	—	—	—	—	—	—
Atropin	—	—	—	—	—	—	250—300	300—400*
Berberin	21 000—22 000	20 000—21 000	700—800	200—250	—	900—1 000	1 500—1 600	19 000—20 000
Bruzin	2 500—3 000	1 900—2 000	—	—	—	6 000—7 000	1 400—1 500	5 000—6 000
Chinidin	1 500—1 600	1 500—1 600	100—150	300—350	500—600	2 000—2 500	6 000—7 000	40 000—45 000
Chinin	2 000—2 500	2 000—2 500	200—250	500—600	500—600	2 000—2 500	6 000—7 000	50 000—55 000
Cinchonin	3 000—3 500	2 000—2 500	100—150	250—300	400—450	1 900—2 000	6 000—7 000	50 000—55 000
Dionin	—	—	—	—	—	—	450—500	900—1 000
Emetin	9 000—10 000	2 500—3 000	—	500—600	—	2 000—2 500	4 500—5 000	21 000—22 000
Eukain	500—600	300—350	—	—	—	400—450	2 000—2 500	3 000—3 500
Eumydrin	—	—	—	—	—	—	800—900*	200—250
Euporphin	2 000—2 500	900—1 000	—	—	—	1 100—1 200	2 000—2 500	6 000—7 000
Heroin	—	—	—	—	—	150—200	900—1 000	1 900—2 000
Hydrastin	—	—	—	—	—	1 000—1 100	4 500—5 000	10 000—11 000
Hydrastinin	450—500	250—300	—	—	—	—	700—800*	600—700*
Kodein	—	—	—	—	—	—	450—500	600—700
Koffein	—	—	—	—	—	—	—	—
Kokain	700—800	300—350	—	—	—	—	1 400—1 500	1 400—1 500
Kolchizin	1 100—1 200	1 000—1 100	—	—	—	—	—	—
Koniin	—	—	—	—	—	—	9 000—11 000*	—
Morphin	—	—	—	—	—	—	200—250	300—350
Nikotin	—	—	—	—	—	—	900—1 000	3 000—4 000*
Novokain	—	—	—	—	—	—	700—800	1 400—1 500*
Pelletierin	—	—	—	—	—	450—500	900—1 000	1 000—1 100
Pilokarpin	—	—	—	—	—	—	450—500	700—800*
Stovain	200—250	100—150	—	—	—	—	1 400—1 500	1 100—1 200*
Strychnin	2 000—2 500*	1 400—1 500	100—150	100—150*	100—150	800—900	3 000—3 500	9 000—10 000
Veratrin	2 000—2 500	1 300—1 400	—	—	—	800—900	1 400—1 500	2 500—3 000

	Trinitro-kresol	Trinitro-thymol	Trinitro-resorzin	Trinitro-phloroglucin	Trinitro-naphthol	Tetranitro-phenol-phthalein	Hexanitro-diphenylamin
Akonitin	1 400—1 500	2 000—2 500	1 400—1 500	2 000—2 500	500—600	1 900—2 000	4 500—5 000
Alypin	2 500—3 000*	4 000—4 500	1 500—3 000	4 000—4 500	1 400—1 500	900—1 000	2 000—2 100
Antipyrin	200—250*	300—350*	1 : 200	400—450*	—	—	—
Arekolin	—	—	—	1 : 200*	—	150—200	6 000—6 500
Atropin	350—400*	600—700	250—300*	350—400	150—200	900—1 000	40 000—45 000
Berberin	17 000—18 000	19 000—20 000	19 000—20 000	19 000—20 000	14 000—15 000	22 000—23 000	5 000—6 000
Bruzin	5 000—6 000	10 000—11 000	5 000—6 000	5 000—6 000	5 000—6 000	5 000—6 000	20 000—21 000
Chinidin	40 000—45 000	45 000—50 000	35 000—40 000	35 000—40 000	24 000—25 000	24 000—25 000	40 000—45 000
Chinin	50 000—55 000	50 000—55 000	30 000—35 000	35 000—40 000	30 000—35 000	19 000—20 000	25 000—30 000
Cinchonin	50 000—55 000	50 000—55 000	30 000—35 000	25 000—30 000*	7 000—8 000	10 000—11 000	30 000—35 000
Dionin	500—600	800—900*	400—500	600—700*	300—350	800—900	20 000—21 000
Emetin	20 000—21 000	24 000—25 000	19 000—20 000	19 000—20 000	12 000—13 000	9 000—10 000	10 000—11 000
Eukain	3 000—3 500	4 500—5 000	2 500—3 000	4 500—5 000	100—150	30 000—35 000	35 000—40 000
Eumydrin	—	150—200	100—150	300—350*	—	100—150	24 000—25 000
Euporphin	4 000—5 000	6 000—7 000	5 000—6 000	7 000—8 000	6 000—7 000	4 000—5 000	12 000—16 000
Heroin	1 400—1 500	1 900—2 000	1 400—1 500	1 900—2 000	1 900—2 000	2 500—3 000	25 000—30 000
Hydrastin	900—1 000	11 000—12 000	8 000—9 000	8 000—9 000	6 000—7 000	4 000—5 000	13 000—14 000
Hydrastinin	250—300*	700—800*	450—500*	1 600—1 700*	500—600	500—600	25 000—30 000
Kodein	450—500	500—600	400—500*	600—700	300—400	1 100—1 200	24 000—25 000
Koffeïn	—	—	—	—	—	—	—
Kokain	600—700	1 900—2 000	2 000—2 500*	2 000—2 500	800—900*	1 400—1 500	20 000—21 000
Kolchizin	—	—	—	—	—	800—900	2 500—3 000
Koniin	—	—	—	—	—	450—500	10 000—11 000
Morphin	200—250*	250—300*	200—250	9 000—10 000	5 000—6 000	11 000—12 000	40 000—45 000
Nikotin	1 800—1 900*	5 000—6 000*	2 500—3 000*	1 100—1 200*	900—1 000	1 200—1 300	50 000—55 000
Novokain	450—500	1 400—1 500	450—500	700—800*	300—400	1 100—1 200	30 000—35 000
Pelletierin	1 000—1 100	1 000—1 100	1 000—1 100	700—800*	—	800—900	50 000—55 000
Pilokarpin	700—800*	700—800*	700—800*	800—900*	500—600	900—1 000	30 000—35 000
Stovain	900—1 000*	1 100—1 200*	900—1 000	3 000—4 000*	900—1 000	3 000—4 000	14 000—15 000*
Strychnin	8 000—9 000	10 000—11 000	6 000—7 000	250—300*	100—150	900—1 000	10 000—11 000
Veratrin	2 500—3 000	2 500—3 000	2 000—2 500	3 000—3 500	1 600—1 700	7 000—8 000	9 000—10 000

empfindlich wie die Fällungsreaktionen, können also mit Vorteil auch zur ersten orientierenden Untersuchung auf die Anwesenheit von Alkaloiden verwendet werden. Diese Reagenzien bestehen entweder aus reiner konzentrierter Schwefelsäure oder einer Schwefelsäure, der etwas Salpetersäure (Erdmanns Reagens), Molybdänsäure (Fröhdes Reagens), Kaliumbichromat heiß gelöst (Luchinis Reagens) oder Kaliumpermanganat 1 : 200 (Wenzells Reagens) zugefügt worden ist. Häufig muß die Reaktion bei Wasserbadwärme ausgeführt werden; man nimmt sie dann in einem flachen Porzellanschälchen vor; ist das nicht der Fall, so kann man Porzellanplatten mit seichten Vertiefungen verwenden, wie sie zum Anreiben von Malerfarben dienen. Hier ist es ebenso wie bei den Fällungsreaktionen wichtig, daß man mit kleinen Quantitäten und bei reichlichem Luftzutritt, also in flachen Schalen oder Uhrgläschen arbeitet.

Um eine Fällungsreaktion durchzuführen, versetzt man den Verdampfungsrückstand der auf Alkaloide zu prüfenden Flüssigkeit oder des Extraktes mit einigen Tropfen Schwefelsäure 1 : 50 [1]) und bringt durch gelindes Erwärmen zur Lösung. Ein Tröpfchen dieser Lösung wird mittels Glasstabes auf ein flaches Uhrglas gebracht, das auf schwarzes Glanzpapier gestellt wurde. Nun bringt man gleichfalls mit einem Glasstab einen Tropfen des Fällungsreagens an den Rand der Uhrschale und läßt durch vorsichtiges Neigen zusammenfließen. An der Berührungsstelle der Flüssigkeiten entsteht bei Anwesenheit des Alkaloids eine Fällung.

Zur Ausführung der Farbenreaktion wird die gepulverte Substanz oder eine (alkoholische oder ätherische) Lösung derselben in die Uhrschale gebracht; in letzterem Fall das Lösungsmittel völlig zum Verdunsten gebracht und nun mit dem Glasstab ein Tropfen des Reagens dazugebracht. Sofort oder nach einiger Zeit, eventuell beim Erwärmen, entsteht die Farbe, deren Nuance natürlich, abgesehen von subjektiven Momenten, von der Menge des Alkaloids abhängig ist, so daß ein genaues Festhalten der Zeit und der begleitenden Momente, eventuell Parallelreaktionen mit dem reinen Alkaloid und schließlich die Prüfung des Absorptionsspektrums zur größeren Sicherheit notwendig ist. Die folgende Tabelle (S. 279—281) gibt die entstehenden Färbungen wieder.

Fröhdes Reagens wird zweckmäßig zuerst angewendet, denn wenn hier sich ein negatives Resultat ergibt, reagieren auch Erdmanns Reagens und reine Schwefelsäure nicht. Mit Fröhdes, Erdmanns Reagens und mit Schwefelsäure reagieren nicht: Atropin, Chinin, Cinchonin, Kokain, Koffein, Koniin, Hyoscyamin, Nikotin, Pilokarpin, Piperidin, Pyridin, Scopolamin, Spartein, Strychnin, Theobromin. Beim Betupfen mit konzentrierter HNO_3 wird Berberin rotbraun, Bruzin rot, orange, gelb, Colchicin violett, braungelb, Curarin purpurrot, Emetin orange, gelb, Hydrastin rötlich, gelb, braungelb, Morphin blutrot, braun, gelb, Papaverin rot, gelb, orange, Akonitin, Codein, Hydrastinin, Narcein, Narkotin, Nikotin, Strychnin, Thebain, Veratrin, Yohimbin gelb, Atropin, Chinin, Cinchonin, Kokain, Koffein, Cytisin, Hyoscyamin, Solanin, Spartein, Theobromin bleiben farblos.

Um ein Objekt auf die enthaltenen Alkaloide zu prüfen, muß man

---

[1]) S. a. J. Gadamer, Lehrbuch d. chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte. Göttingen 1909.

	Wenzells Reagens	Luchinis Reagens	Erdmanns Reagens	Reine Schwefelsäure	Fröhdes Reagens
Akonitin	amethystfarbig, dann blutrot, schließlich brauner Niederschlag	—	gelb	gelb	gelb
Atropin	Amethystfarbe, später violett, schließlich ziegelrot. Niederschl.	—	—	—	—
Apomorphin	—	—	farblos	farblos	schmutziggrün, allmählich blau
Berberin	—	—	olivgrün, dann gelbbraun	olivgrün, bald gelb	braungrün
Brucin	rosenrot, dann amethystfarbig, später karminrot, zuletzt farblos	hellrot, dann grün	blutrot, allmählich abblassend	farblos	rot. allmählich gelb
Chelidonin	—	—	grün	nacheinander: grünlichgelb, bräunlich, kirschrot, violett	gelbgrün, blaugrün
Chinin	Amethystfarbe, hellrot werdend, nach 24 h noch violett. Zusatz von einem Tropfen HNO_3 färbt dunkler	strohgelb	—	—	—
Coffeïn	amethystfarb., dunkelviolett, blutroter Niederschlag, der nach 24 h braun wird	nach 24 h dunkelgrün	—	—	—
Codeïn	—	—	farblos, beim Erwärmen blau	farblos, b. Erwärmen schwach rötlich, bläulich	gelbgrün, allmählich blau
Colchicin	aufeinanderfolgend: rot, karmin, gelbgrün, gelb, farblos	dunkelgelb nach 24 h	violett, schnell gelb	gelb	violett, schnell gelb

	Wenzells Reagens	Luchinis Reagens	Erdmanns Reagens	Reine Schwefelsäure	Fröhdes Reagens
Cotarnin		—	gelb, beim Erwärmen schmutzig rot	gelblich, b. Erwärmen rötlich, schnell mißfarben	gelbgrün, dann dunkelgrün, zuletzt schmutzig himbeerrot
Curarin	—	—	—	schmutzig braun	
Cytisin	—	—	orangegelb, dann gelbbraun	farblos	farblos
Digitalin	rotbraune, dann lachsfarbige und zuletzt schmutziggelbe Fällung	gelbe Ausscheidung; nach 24 ^{h} weißer Niederschlag und grüngelbe Flüssigkeit	—	—	—
Emetin	—	—	grün	braungrün	rot, dann blaugrün
Euporphin	—	—	fast farblos, beim Erwärmen über schmutzigviolett braungrün	farblos, b. Erwärmen braungrün	dunkelgrün
Hydrastin	—	—	gelb	farblos, b. Erwärmen violett	grün, allmählich braun
Hydrastinin	—	—	gelb, beim Erwärmen bräunlich	gelblich, blau fluoreszierend b. Erwärmen bräunlich	intensiv gelb, b. Erwärmen dunkelbraun
Lobeliin	—	—	gelblich, dann rot	gelblich, rötlich	braun, dann grün
Morphin	rubinrot, b. Bewegen gelblich, n. 24 Stunden verschwindend	keine Reaktion, nach 24 ^{h} gelbgrün, dann hellgrün	farblos, b. Erwärmen rötlichgelb	schwach rosa	violett, dann blau, schmutziggrün, gelb, blaßrosa
Morphosan	—	—	farblos, b. Erwärmen bräunlich	farblos, b. Erwärmen schmutzig braungrün	schön violett, aber schnell schmutzig grünbraun
Narcein	rubinrot, b. Bewegen gelblich, nach 24 ^{h} noch vorhanden	keine Reaktion, später gelbgrün, grün und nach 24 ^{h} blau	braun, vom Rande violett, schmutzig rot	gelb, beim Erwärmen blutrot	dunkeloliv, grün, beim Erwärmen rötlichbr., blutrot, v. Rande blau

	Wenzells Reagens	Luchinis Reagens	Erdmanns Reagens	Reine Schwefelsäure	Fröhdes Reagens
Narkotin	—	—	rot, allmählich intensiver, b. Erwärmen kirschrot	grünlichgelb, gelbrot v. Rande blauviolett, purpur, violett, beim Erwärmen orange	blaugrün, grünrötlich, gelb
Oxydimorphin	—	—	braunrot, braun	farblos	blau, dann violett
Papaverin	—	—	dunkelrot	farblos, bei längerem Erwärmen schwach blauviolett	grün, beim Erwärmen blau
Peronin	—	—	rötlichgelb, beim Erwärmen rot	rötlichgelb, beim Erwärmen braunrot	rotviolett, blaugrün
Protopin	—	—	orange, violett, vom Rande her grün	blauviolett	vorübergehend violett, grün, tiefblau, schön grün
Physostigmin	—	—	schwach rötlichgelb	farblos	schwach rötlichgelb
Solanin	—	—	orange, b. Erwärmen schmutzig-violett, braunrot	wie vorher	wie vorher
Strychnin	amethystfarbig, allmählich Entfärbung unter Absatz eines weißen Niederschlags	keine Reaktion, nach 24 h orangegelb, Ausscheidung v. Kristallsternen	—	—	—
Thebain	—	—	blutrot, allmählich gelbrot	blutrot, allmählich gelbrot	blutrot, allmählich gelbrot
Veratrin	hellrot, dann hefefarbig, nach 24 h orange Niederschlag	kanariengelber, auf der Oberfläche schimmernder Niederschlag	gelb, bald orange	grün fluoreszierend	rot, karminrot
Yohimbin	—	—	allmählich rötlich	farblos	intensiv blau, v. Rande grün

diese erst extrahieren. Man zieht auf schwach siedendem Wasserbad nach Dragendorff wiederholt mit Wasser aus, dem auf je 100 ccm 10 ccm verdünnte Schwefelsäure 1 : 5 zugesetzt wurde. Colchicin, Solanin und Digitalin können auch schon durch gelinde Wärme zersetzt werden, in diesem Falle ist die Extraktion in der Kälte vorzunehmen.

Die Auszüge werden filtriert, die freie Säure bis zur schwachsauren Reaktion mit Magnesia neutralisiert und dann im luftverdünnten Raum am Wasserbad bis zum Sirup eingedampft. Der Rückstand wird mit dem vierfachen Volumen Alkohol und etwas verdünnte Schwefelsäure 24^h bei 30—40 ^{0} unter öfterem Digerieren gehalten. Nach dem Erkalten wird filtriert, der Rückstand mit Alkohol gewaschen, der Alkohol der Extrakte verdunstet und der wässerige Rückstand im Kolben bei 30—40 ^{0} mit Petroläther unter häufigem Schütteln digeriert, um färbende Bestandteile zu entfernen. Ist Piperin anwesend, welches vom Petroläther aufgenommen wird, dann muß die petrolätherische Lösung im Scheideltrichter abgehoben und das Alkaloid durch Verdunsten des Petroläthers gewonnen werden. Die entfärbte wässerige Alkaloidlösung wird nun längere Zeit bei 40 ^{0} mit Benzol digeriert, was mit frischen Mengen Benzol einigemal wiederholt werden muß. Dann werden die Benzolauszüge vereinigt, das Benzol verdunstet. Im Rückstand kann vorhanden sein: Colchicin, Digitalin, Spuren von Veratrin, farblose Nadeln deuten auf Koffein, ein gelb gefärbter Rückstand zeigt Colchicin an. Schüttelt man den Rückstand mit Amylalkohol aus, so gehen Pikrotoxin, Salizin und Narkotin (teilweise) in Lösung. Die saure wässerige Lösung wird nach dem Ausschütteln mit Amylalkohol mit Chloroform ausgeschüttelt; dabei gehen Papaverin, Thebain und ein Teil von Bruzin und Narcein in Lösung. Ein kristallinischer Rückstand nach Verdunsten des Chloroforms deutet auf Papaverin oder Bruzin. Nach dem Extrahieren mit Chloroform wird die wässerige Lösung nach Erwärmen auf 40 ^{0} mit Petroläther überschichtet, dann mit Ammoniak im Überschuß behandelt. Strychnin, Bruzin, Chinin, Koniin, Nikotin, Papaverin werden dadurch extrahiert und bleiben nach dem Verdunsten des Lösungsmittels zurück. Koniin und Nikotin, welche einen charakteristischen Geruch besitzen, gehen mit Wasser in Lösung. Beim Erkalten der warmen Petrolätherlösung scheidet sich Chinin in Kristallen aus, ebenso Strychnin und Papaverin, wenn sie in größerer Quantität zugegen sind, amorph Bruzin und Veratrin. Wenn der trockene Alkaloidrückstand mit absolutem Äther behandelt wird, gehen Chinin, Papaverin und Veratrin in Lösung. Behandelt man mit absolutem Alkohol, so bleiben Strychnin und Bruzin zurück, welche in demselben schwer löslich sind.

Die ammoniakalische, wässerige Alkaloidlösung bei 40—50 ^{0} mit Benzol behandelt, läßt Chinidin, Cinchonin, Atropin, Akonitin und Kodein in Lösung gehen.

Beim Verdunsten des Lösungsmittels scheiden sich Cinchonin, Atropin, Chinidin, Kodein kristallinisch, Akonitin amorph aus.

Nach der Extraktion mit Benzol wird die wässerige ammoniakalische Lösung mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, auf 50—60 ^{0} erwärmt, mit Amylalkohol überschichtet, mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht und mit dem Amylalkohol durchgeschüttelt. Morphin, Solanin

und Narzein (teilweise) werden gelöst und scheiden sich beim Verdunsten der Lösung aus, und zwar Morphin kristallinisch, Solanin schon beim Erkalten als Gallerte. Der Rest des Narzeins scheidet sich ab, wenn die Lösung zur Trockene gebracht wird, und kann aus Alkohol oder Wasser umkristallisiert werden.

Qualitative Bestimmung der einzelnen Alkaloide.

Atropin: Die Erkennung erfolgt am sichersten durch den physiologischen Versuch. Die aus dem betreffenden Objekt isolierte und sorgfältig gereinigte Base wird in schwach angesäuertem Wasser gelöst, so daß die Lösung kaum sauer ist und ein Tropfen davon in den Konjunktivalsack des gesunden Menschen- oder Katzenauges gebracht; noch 0,0002 mg Atropin wirken deutlich mydriatisch (die Pupille erweiternd). Eine kleine Quantität, etwa 1 mg, wird in einer trockenen Eprouvette erhitzt, bis weiße Dämpfe aufsteigen und mit 1,5 ccm konzentrierter H_2SO_4 versetzt; beim Erwärmen tritt Bräunung ein, nun werden sehr allmählich unter Umschütteln 2 ccm Wasser zugesetzt, wobei ein angenehmer Geruch auftritt, der an den Duft von Orangenblüten erinnert; wirft man nun ein Kriställchen von Kaliumpermanganat hinein, so geht der Geruch in Bittermandelölgeruch über. Nach Vitali entsteht sofort eine Rotviolettfärbung, wenn man die kleine Quantität Atropin mit fünf Tropfen rauchender Salpetersäure verrührt, auf dem Wasserbad zur Trockne bringt und den gelben Rückstand nach dem Erkalten mit einem Tropfen einer alkoholischen Ätzkalilösung 1 : 10 betupft.

Goldchlorid erzeugt in der wässerigen Lösung eines Atropinsalzes einen gelben Niederschlag, der sehr schwer löslich und gut kristallisierbar ist. Mit Hilfe der Goldsalze lassen sich auch die mydriatischen Basen Atropin, Hyoscyamin, Skopolamin voneinander unterscheiden.

Der mit einem geringen Überschuß von Goldchlorid entstandene Niederschlag löst sich beim Erwärmen auf und scheidet sich beim Erkalten wieder aus, und zwar bei

Atropin ölig, allmählich erstarrend, Schmelzpunkt der glanzlosen Kristalle 135—137 ^{0},

Hyoscyamin sofort kristallinische Blättchen, stark glänzend, Schmelzpunkt 160—162 ^{0},

Skopolamin sofort kristallinisch, mikroskopische, federbartartige Kristalle, Schmelzpunkt 210—214 ^{0}.

Chinin: Die wässerige Lösung reagiert sauer und zeigt im auffallenden Lichte blaue Fluoreszenz, die nur in saurer Lösung auftritt und sich in neutraler Lösung zeigt, wenn man Weinsäure, Phosphorsäure usw., nicht aber Halogenwasserstoffsäuren zusetzt, die vielmehr die Fluoreszenz aufheben.

Versetzt man eine alkoholische Chininlösung mit einer Mischung aus einem Teil Jod, gelöst in 1 Teil 50prozentiger Jodwasserstoffsäure und 50 Teilen 70 prozentigen Alkohols, und 0,8 Teilen Schwefelsäure und läßt kurze Zeit stehen, so entsteht eine in metallglänzenden Blättchen kristallisierende Substanz, die im durchfallenden Lichte blaß olivgrün, im auffallenden schön dunkelgrün aussieht und das Licht stark polarisiert (Herapathitreaktion).

Gibt man zu fünf Teilen der Chininlösung (zirka 1 : 200) einen Teil Chlorwasser und unmittelbar darauf Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion, so wird die Lösung smaragdgrün, bei eben eingetretener Neutralisation blau und beim Übersättigen mit Säuren violett bis feuerrot (Thalleiochinreaktion).

Zu 10 ccm der schwach angesäuerten Chininlösung wird je ein Tropfen Bromwasser, Ferrozyankali 1 : 10 und 10prozentiges Ammoniak hinzugefügt. Schüttelt man nunmehr mit Chloroform, so tritt noch bei einer Verdünnung 1 : 1 Million deutliche Rotfärbung ein (Erythrochininreaktion).

Beim Chinchonin treten die genannten Reaktionen nicht ein, mit Chlorwasser und Ammoniak entsteht ein weißer Niederschlag. In Äther ist es zum Unterschied von Chinin schwer löslich, worauf eine Methode beruht, die beiden zu trennen.

Morphin: Versetzt man eine Lösung des Alkaloids in konzentrierter H_2SO_4 mit einem Körnchen KNO_3 und erwärmt, bis weiße Dämpfe auftreten, so entsteht eine rötliche Färbung. Läßt man nun erkalten und fügt noch ein Körnchen KNO_3 hinzu, so entsteht eine rotviolette Färbung, die schnell in Blutrot übergeht und sehr bald verblaßt (Husemanns Reaktion).

Dampft man die trockene Substanz mit trockener Salzsäure unter Zufügung von wenig konzentrierter H_2SO_4 bei 100—120 ° ein, so erhält man einen roten Rückstand; wird nun wieder etwas HCl hinzugefügt, mit $NaHCO_3$ neutralisiert, so erhält man eine violette Färbung. Gibt man dann zu dieser Flüssigkeit einige Tropfen einer konzentrierten Lösung von Jod in Jodwasserstoffsäure unter Vermeidung eines Überschusses, so geht das Rot in Smaragdgrün über und beim Schütteln mit Äther wird der Äther rot, während die wässerige Flüssigkeit grün bleibt (Pellagris Reaktion).

Versetzt man eine kleine Menge Morphin in der Porzellanschale mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, der etwas Salpetersäure zugefügt wurde, so entsteht eine schwach rosarote Lösung, die beim Erwärmen auf dem Wasserbade nach dem Erkalten blutrot wird.

Koniin: Einige Tropfen einer Lösung von 1 g $KMnO_4$ in 200 g konzentrierter H_2SO_4 mit Coniin verrührt, liefern eine beständige violette Färbung, die sich von der anfänglichen grünen Lösung gut unterscheidet.

Nikotin: Mit Pikrolonsäure charakteristische, zu Büscheln vereinigte Nadeln, die bei 213 ° schmelzen. Eine ätherische Nikotinlösung mit dem gleichen Quantum ätherischer Jodlösung versetzt, gibt eine Trübung oder einen Niederschlag und nach einiger Zeit lange rote Kristallnadeln, die das Licht mit blauer Farbe reflektieren (Roussins Kristalle). Auch hier ist das physiologische Experiment den rein chemischen vorzuziehen. Ein Frosch, dem eine minimale Menge Nikotin injiziert wird, schlägt unter Muskelzuckungen die vorderen Extremitäten nach rückwärts, so daß sich die Fußwurzeln am Becken berühren, während die Oberschenkel rechtwinklig vom Körper wegstehen.

Strychnin: erzeugt in minimalen Dosen beim Frosch oder einer weißen Maus, unter die Haut gespritzt, tetanische Krämpfe. Löst man zirka 0,1 g unter Aufkochen in 5 ccm Wasser und setzt einige Tropfen $K_2Cr_2O_7$-Lösung zu, bis die Lösung orangegelb ist, und läßt abkühlen, so fällt ein feiner goldgelber Niederschlag. Dieser wird abfiltriert und

davon mit einem Glasstab etwas auf ein Uhrglas gebracht, auf das früher wenig konzentrierte H_2SO_4 getropft worden war. Streicht man mit der am Glasstab befindlichen Strychninverbindung durch die Schwefelsäure, so entstehen violette Wegspuren. Man kann auch die auf Strychnin zu prüfende Substanz auf der Uhrschale in Schwefelsäure lösen und ein Körnchen Kaliumbichromat mit dem Glasstab durch die Lösung schieben, wobei sich die blauvioletten Wegspuren zeigen, die aber bald abblassen.

Quantitative Bestimmung.

Bestimmung mit Kaliumquecksilberjodid nach Heikel[1]). Dieses sogenannte Mayersche Reagens hat sich für die quantitative Alkaloidermittlung bewährt und wird zu diesem Zweck als $\frac{1}{20}$ Normallösung mit 6,775 g $HgCl_2$ und 25 g KJ auf einen Liter verwendet. Aus der Menge des Reagens, welche zu der Alkaloidlösung zufließen gelassen werden muß, bis vollständige Fällung erfolgt ist, kann die Menge des Alkaloids berechnet werden. Um diesen Zeitpunkt zu bestimmen, muß man von der Fällung abfiltrieren und von neuem fällen; tritt kein Niederschlag mehr ein, dann ist die Titration beendigt. Natürlich ist diese Methode sehr ungenau und es bietet wesentliche Vorteile, einen Überschuß des Reagens hinzuzufügen und das in der Lösung gebliebene Quecksilber zurückzutitrieren. Dadurch wird nicht nur die mit dem Alkaloid in Verbindung getretene Quecksilbermenge genauer bestimmt, sondern es fällt auch das Filtrieren fort, wodurch erheblich Zeit gespart wird. Heikel hat mittels dieser Restmethode die Anzahl Kubikzentimeter des Mayerschen Reagens bestimmt, die mit 0,1 g eines Alkaloids reagieren. Zu diesem Zweck wird das überschüssige Quecksilber des Reagens durch eine Zyankalilösung bestimmten Gehaltes in das undissoziierte und daher reaktionsunfähige Quecksilberzyanid übergeführt und der Überschuß dieser Zyankalilösung durch Silbernitrat festgestellt. Die Zyankalilösung ist so eingestellt, daß ein bestimmtes Volumen derselben mit 10 ccm 10prozentigen Ammoniaks und einigen Tropfen Jodkalilösung als Indikator das gleiche Volumen $\frac{n}{20}$ $AgNO_3$-Lösung erfordert, um die erste bleibende Trübung von Silberzyanid zu erzielen.

Wird die zugefügte Anzahl $\frac{n}{20}$ KCN-Lösung mit K, die verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{20}$ $AgNO_3$-Lösung mit A und die Anzahl von Kubikzentimeter des Mayerschen Reagens mit M bezeichnet, so besteht zwischen den drei Lösungen die Beziehung $M = 2\ (K - A)$. Angenommen, es wären von dem Alkaloid 0,1 g in je 10 ccm Wasser gelöst, 10 ccm n-H_2SO_4 zugefügt; man setzt einen Überschuß des Mayerschen Reagens (nicht unter 15 ccm) zu der abgemessenen Menge der Alkaloidlösung (5—20 ccm), verdünnt auf 100 ccm, schüttelt gut durch (ein reichliches Durchschütteln ist nötig, weil besonders bei

[1]) G. Heikel, Chemiker-Zeitung **32**, 1149, 1162, 1186, 1212 (1908).

größerer Verdünnung der Niederschlag häufig kolloidal ausfällt und durchs Filter geht, bei gründlicher Koagulation erhält man aber klare Filtrate) und filtriert durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäß. Zu 80 ccm der filtrierten Lösung gibt man 10 ccm 10 prozentigen Ammoniaks und eine bestimmte Menge (meist 10 ccm) genau eingestellter $\frac{n}{20}$ KCN-Lösung. Unter Umrühren werden dann $\frac{n}{20}$ $AgNO_3$-Lösung bis zur bleibenden Trübung zugelassen. Die nachfolgende Tabelle zeigt das Verhalten der einzelnen geprüften Alkaloide:

	ccm Reagens erforderlich für 0,100 g Alkaloid	1 ccm Reagens entspricht g Alkaloid	Fehlergrenze	Bemerkungen
Akonitin	6,3	0.0159	± 5	
Atropin	10,8	0,0093	± 2	
Berberin	10,9	0,0092	± 10	bei starken Verdünnungen ergeben 10 ccm Reagens auf 0,1 g nahezu genaue Resultate
Brucin	8,9	0,0112	± 12	
Chinin	11,2	0,00895	± 2	
Chinidin	19,5	0,00514	± 10	
Cinchonin	11,5	0,0087	± 5	
Cinchonidin . . .	19,5	0,00514	± 10	bei starken Verdünnungen ergeben 13,2 ccm Reagens auf 0,1 g fast genaue Resultate
Cocain	12,2	0,0082	± 7	
Colchicin	6,95	0,00144	± 2	
Heroin	8,2	0,00122	± 7	
Hydrastin	8,6	0,00116	± 2	Die Endverdünnung darf 1:1000 nicht überschreiten
Hyoscyamin . . .	10,8	0,0093	+ 2	
Ipecac. Alkaloide	11,2	0,00895	± 3	
Morphin	9,6	0,0104	± 5	Die Endverdünnung darf 1 : 1000 nicht überschreiten.
Physostigmin . .	11,9	0,0811	± 2	bei starker Verdünnung ergeben 7 ccm Reagens auf 0,100 g fast genaue Resultate. Großer Überschuß an Reagens erforderlich.
Pilocarpin	13,1	0,00765	± 9	
Spartein	34,2	0,00293	± 3	
Strychnin	12,0	0,00835	± 2	
Veratrin	5,2	0,0192	± 4	

Bezüglich der Einzeldurchführungen muß auf die Originalarbeit verwiesen werden.

Warren und Weiß [1]) teilen mit, daß die Pikrolonsäure infolge Erzielung der schön kristallisierenden Pikrolonate, welche sehr schwer löslich sind, zur Charakterisierung der Alkaloide sehr geeignet sind, und die Pikrate, mit denen sie sonst Ähnlichkeit besitzen, an Schwerlöslichkeit übertreffen. Die Verwendung des Fällungsmittels geschieht am besten in Form der gesättigten alhoholischen Lösung, in manchen Fällen der Lösung in Wasser, Benzol, Äther, Chloroform. Aus den Pikrolonaten lassen sich leicht die reinen Alkaloide gewinnen, indem

[1]) W. H. Warren und R. S. Weiß, Journ. of Biol. Chem. 3, 327 (1907).

man die Niederschläge mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt und die Pikrolonsäure durch Essigäther entfernt. Die Pikrolonate von Coniin, Nikotin, Strychnin, Bruzin, Morphin, Kodein, Atropin, Chinin, Hydrastin sind von den genannten Autoren studiert, beschrieben und in Mikrophotogrammen abgebildet worden. Das Alkaloid wird zweckmäßig durch Umkristallisieren der aus den wässerigen Lösungen erhaltenen Niederschläge aus Alkohol gereinigt. Kokain, Akonitin, Koffein geben keine typischen Niederschläge, für Bruzin und Kodein ist Pikrinsäure das schärfere Reagens, für Nikotin, Chinin, Atropin, Hydrastin ist die Empfindlichkeit gegen beide Fällungsmittel, Pikrinsäure und Pikrolonsäure, gleich, für Koniin. Strychnin und Morphin ist Pikrolonsäure das empfindlichere Reagens. Die meisten der wichtigeren Alkaloide lassen sich sehr genau auf alkalimetrischem Wege unter Verwendung von Jodeosin als Indikator bestimmen (Gadamer, l. c. 498).

Ausführung: Der die Alkaloide enthaltende Organextrakt wird nach sorgfältiger Reinigung im tarierten Wägegläschen eingedunstet und über Schwefelsäure im Exsikkator bis zum konstanten Gewicht getrocknet und der Rückstand, respektive, wenn es sich um flüchtige Basen handelt, dessen salzsaures Salz (über Ätzkali getrocknet) zur Wägung gebracht. Dieser Rückstand wird in einer bestimmten überschüssigen Menge $\frac{n}{10}$ oder $\frac{n}{100}$ Salz- oder Schwefelsäure gelöst und der Überschuß mit $\frac{n}{10}$ oder $\frac{n}{100}$ KOH zurücktitriert. Zu diesem Zweck wird eine etwa 250 ccm fassende Flasche mit eingeriebenem Stöpsel aus weißem, alkaliarmem Glas mit zirka 50 ccm Wasser und soviel Äther versetzt, daß die ätherische Schichte nach dem Umschütteln 1—1,5 ccm hoch ist; dann wird nach Zusatz von fünf Tropfen ätherischer Jodeosinlösung umgeschüttelt. Ist nach Trennung der Schichten die wässerige Lösung rosa gefärbt, so reagiert die Flüssigkeit alkalisch; in diesem Falle gibt man $\frac{n}{100}$ H_2SO_4 in zehntel Kubikzentimetern solange hinzu, bis die wässerige Lösung nach dem Umschütteln farblos ist und auch nach längerem Schütteln keine Rosafärbung auftritt, welche sich ergeben kann, wenn das Glas Alkali abgibt, was die Bestimmung unbrauchbar macht. Bleibt die Lösung farblos, dann gibt man 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ KOH hinzu. Die ursprüngliche Mischung ist gewöhnlich von vornherein sauer, da der käufliche Äther sauer ist; in diesem Falle neutralisiert man zunächst durch $\frac{n}{100}$ KOH und macht dann erst, wie vorher angegeben, mit $\frac{n}{100}$ Säure sauer. Nun wird zu dem Inhalt der Schüttelflasche die sauere Alkaloidlösung zugegeben und umgeschüttelt. Nachdem die Rosafärbung verschwunden ist, fügt man $\frac{n}{100}$ Lauge in Portionen zu zirka 1 ccm hinzu, bis die wässerige Schichte nach kräftigem Umschütteln wieder deutlich rosa gefärbt ist. Jetzt ist natürlich ein Überschuß von Lauge bis zu 1 ccm vorhanden; man gibt jetzt 1 ccm $\frac{n}{100}$ Säure

hinzu und dann in Portionen zu 10 ccm $\frac{n}{100}$ KOH, bis die wässerige Schichte dauernd schwach rosa gefärbt bleibt.

Die Berechnung der vorhandenen Alkaloidmenge erfolgt nach der Gleichung: Alk + HCl = AlkHCl, wonach 1 Molekül HCl zur Neutralisation von 1 Molekül Alkaloid erforderlich ist. Es ist daher nur die Konzentration einer $\frac{n}{100}$ Alkaloidlösung zu ermitteln: $^1/_{100}$ Grammäquivalent in einem Liter aufgelöst. 1 ccm zur Neutralisation verbrauchter $\frac{n}{100}$ Säure Lösung entspricht daher $^1/_{100}$ Milligrammäquivalent. Die Gesamtmenge der angewendeten Säure, vermindert um die zur Rücktitration erforderlichen Kubikzentimeter $\frac{n}{100}$ Lauge gibt, mit diesem Faktor multipliziert, die vorhandene Menge Alkaloid.

Beispiel: Das isolierte Alkaloid sei Atropin gewesen und die gewichtsanalytische Bestimmung habe 0,04 g ergeben, so würden nach der Gleichung $C_{17}H_{23}NO_3$(Mol.-Gew. 289) + HCl = $H_{17}H_{23}NO_3 \cdot HCl$ 289 g Atropin 36,5 g HCl entsprechen, somit 2,89 g Atropin einem Liter $\frac{n}{100}$ Säure, welche ja im Liter 0,365 g HCl aufgelöst enthält. Von dieser entsprach also 1 ccm = 0,00289 g Atropin. Demnach würden 20 ccm dieser Salzsäure bereits 0,0578 g Atropin neutralisieren und zur Auflösung der vorhandenen 0,04 g reichlich genügen. Zum Zurücktitrieren seien zunächst 7 ccm $\frac{n}{100}$ KOH verbraucht worden, dann nach einem Zusatz von 1 ccm $\frac{n}{100}$ Säure nochmals 0,5 ccm der Lauge. Dann sind im ganzen 21 ccm Säure und 7,5 ccm Lauge verwendet worden. Die Differenz von 13,5 ccm wurde zur Neutralisation des Alkaloids verbraucht. Daher sind 13,5 × 0,00289 g = 0,0390 g Atropin vorhanden. Zur richtigen Ausmittelung des Alkaloids muß dieses in freier Form und nicht teilweise als Salz vorliegen. Letzteres kann sich besonders dann ergeben, wenn zur Ausschüttelung des Alkaloids Chloroform verwendet und dieses durch Erwärmen entfernt wurde. Durch stärkere Basen wird nämlich aus Chloroform Salzsäure abgespalten, welche das Alkaloid zum Teil in das Chlorhydrat überführen kann. Chloroform sollte also bei der Ausschüttelung für die quantitative Bestimmung nicht verwendet oder wenigstens in der Kälte abgedunstet werden.

Folgende Alkaloide sind nach dieser Methode bestimmt und der Faktor festgestellt worden, mit dem die verbrauchten Kubikzentimeter Säure zu multiplizieren sind, um die Menge des Alkaloids in Grammen zu ergeben:

Alkaloid	Faktor
Akonitin	0,00647 g
Atropin	0,00289 „
Hyoscyamin	
Brucin (wasserfrei)	0,00394 „
Kokain	0,00303 „
Koniin	0,00127 „
Emetin	0,00254 „
Granatwurzelalkaloide (Mittelwert)	0,001475 „
Jervin	0,00411 g
Morphin (wasserfrei)	0,00285 „
Nikotin	0,00162 „
Pilocarpin	0,00208 „
Protoveratrin	0,00625 „
Pseudojervin	0,00517 „
Rubijervin	0,00401 „
Strychnin	0,00334 „

Quantitative Bestimmung des Chinins nach J. Katz[1]): Der Kern dieser Methode besteht darin, daß das freie Chinin durch Eindampfen in alkoholischer Lösung unter Zusatz von Salzsäure in das zweisäurige Salz verwandelt wird, daß die überschüssige Säure durch das zugefügte Kochsalz verflüchtigt wird und daß in dem erhaltenen zweisäurigen Salz die Säure in alkoholischer Lösung mit alkoholischer $\frac{n}{10}$ Kalilauge und Poirriers Blau als Indikator titriert wird.

Ausführung: Die Methode ist für Extrakte, Tinkturen, Rinde usw. anwendbar. 6 g getrocknete und gepulverte Chinarinde werden mit 15 g Chloroform und 5 g einer 5prozentigen Natronlauge ½ Stunde lang geschüttelt. Darauf setzt man 45 g Äther und zirka 1 g Magnesia usta zu, schüttelt kräftig um und filtriert 40 g der klaren Chloroformätherlösung ab. Der Chloroformäther wird bis auf etwa 1 ccm abdestilliert, der Rückstand wird mit 3 . 3 ccm Alkohol in ein Schälchen gespült, mit zehn Tropfen Salzsäure und zirka 0,25 g Kochsalz versetzt und auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft. Gegen Ende des Verdampfens sorgt man durch fleißiges Schwenken des Schälchens dafür, daß sich das Kochsalz als feines Kristallmehl und nicht in großen Kristallen absetzt und daß die Masse sich möglichst dünn auf dem Boden des Schälchens verteilt. Darauf spült man die an den Wänden des Schälchens befindliche Masse mit Hilfe der Spritzflasche mit Alkohol auf den Boden der Schale und dampft unter fleißigem Umschwenken wiederum ein. Der eingetrocknete Rückstand bleibt noch ¼ Stunde auf dem Wasserbade oder besser im Wassertrockenschrank stehen. Darauf löst man die Masse in Alkohol etwas und spritzt sie mitsamt dem ungelösten Kochsalz in einen kleinen Erlenmeyerkolben, ergänzt die Flüssigkeit mit Alkohol auf etwa 25 ccm, setzt fünf Tropfen einer 0,2 prozentigen Lösung von Poirriers Blau zu und titriert mit einer alkoholischen $\frac{n}{10}$ Kalilauge, die man durch Mischen von 10 ccm Normalkalilauge mit absolutem Alkohol zu 100 ccm hergestellt hat. Die verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$ Kalilauge werden mit 1,62 (das halbe Molekulargewicht des Chinins beträgt 162) multipliziert und ergeben durch 4 dividiert den Prozentgehalt der Chinarinde an Alkaloid. Der Umschlag des Indikators ist in diesem Falle scharf von himmelblau in zwiebelrot.

A. D. Thorburn hat folgende titrimetrische Morphinbestimmungsmethode ausgearbeitet[2]): Die wässerige Lösung der Morphinsalze wird ammoniakalisch gemacht und mit einer Mischung von drei Teilen Phenyläthylalkohol (das etwas mehr als $^1/_{20}$ seines Gewichtes Morphin bei Zimmertemperatur löst und selbst in Wasser sehr wenig löslich ist) und einem Teil Benzol ausgeschüttelt, bis eine Probe mit Mayers Reagens die vollständige Extraktion des Morphins aus der wässerigen Lösung anzeigt, was gewöhnlich nach zwei Extraktionen der Fall ist. Die Lösung wird eine Stunde auf dem Wasserbade er-

---

[1]) J. Katz, Ber. d. d. pharmazeut. Ges. **20**, 316 (1910).

[2]) A. D. Thorburn, Journ. of Inv. and Engin. Chem. **3**, 754 (1910).

wärmt, eine bekannte Menge $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure zugefügt und die wässerige Lösung mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge unter Verwendung von Hämatoxylin als Indikator titriert; 1 ccm der Säure entspricht 0,03 g kristallisierten oder 0,0283 g wasserfreien Morphins oder 0,0376 g kristallisierten Morphinsulfats. Es können auf diese Weise Mengen von weniger als 0,175 g bestimmt werden und die Bestimmung in vier Stunden durchgeführt sein.

Nikotinbestimmung nach Bertrand und Javillier[1]), modifiziert von R. M. Chapin: Soviel Substanz, als 1—2 g Nikotin entspricht (von Extrakten mit viel fremden Substanzen nicht mehr als 30 g), wird in einen Rundkolben gespült und 1—1,5 g Paraffin nebst ein wenig Bimsstein und 5—10 ccm starker Natronlauge 1 : 2 hinzugefügt. Nunmehr wird das freie Nikotin mittels eines starken Wasserdampfstromes abgeblasen, bis einige Kubikzentimeter des Destillates sich mit Silikowolframsäure nicht mehr trüben. Als Vorlage dienen 10 ccm Salzsäure 1 : 4. Das im Destillationskolben zurückbleibende Flüssigkeitsvolumen soll bei Beendigung der Destillation so klein als möglich sein. Das Destillat wird auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, durch ein trockenes Filter filtriert und in einem Teil durch Methylorange die sauere Reaktion festgestellt. Nun wird eine bestimmte, ungefähr 0,1 g Nikotin entsprechende Menge des Destillates mit der Pipette abgehoben und auf je 100 ccm Flüssigkeit 3 ccm Salzsäure 1 : 4 und auf zirka 0,01 g Nikotin 1 ccm einer 12prozentigen Lösung Silikowolframsäure hinzugefügt. Der entstehende Niederschlag wird gut umgerührt, elf Stunden stehen gelassen und dann über ein quantitatives Filter abfiltriert, mit kaltem Wasser, das auf einen Liter 1 ccm konzentrierte HCl enthält, gewaschen. Die ersten Anteile des Filtrates sind mit einigen Tropfen des Destillates auf einen Überschuß von Silikowolframsäure zu prüfen. Filter und Niederschlag werden noch feucht in einem Platintiegel vorsichtig verascht und zuletzt geglüht. Das Gewicht des Rückstandes mit 0,114 multipliziert, gibt die Menge des gefällten Nikotins an. Zur Erzielung noch größerer Genauigkeit kann der Niederschlag in einem gewogenen Goochtiegel gesammelt, bei 125° getrocknet und als wasserfreies Nikotin-Silikowolframat $2\,C_{10}H_{14}N_2 \cdot 2\,H_2O \cdot SiO_2 \cdot 12\,W_0O_3$ gewogen werden. Man kann den Silikowolfram-Niederschlag auch in Wasser verteilen, das Salzsäure und Reagens enthält, denselben nach dem Zentrifugieren durch $MgO + H_2O$ zersetzen, das abgespaltene Nikotin durch Wasserdampf übertreiben und mit Schwefelsäure, die im Liter 3,024 g H_2SO_4 enthält, unter Verwendung von Alizarinsulfosäure als Indikator titrieren. 1 ccm dieser Säure entspricht 10 mg Nikotin.

In frischen Pflanzen kann man den Nikotingehalt nach Mellet[2]) bestimmen. Etwa 250 g der fein zerschnittenen Pflanzensubstanz werden im verschlossenen Kolben mit siedendem Wasser übergossen, stehen gelassen und nach 24 h mit Kalkmilch versetzt und im verschlossenen Kolben unter häufigem Umschütteln wieder 24 h stehen gelassen. Das in Freiheit gesetzte Nikotin wird mit Wasserdampf abdestilliert, wobei sich

[1]) Bertrand und Javillier, Bull. de la Science Pharmakol. (4), **5**, 241 (1909); **16**, 7 (1909).

[2]) R. Mellet, Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharmac. **49**, 117 (1911).

das Volumen im Destillationskolben verringern muß. Die Destillation ist beendigt, wenn das dreifache der ursprünglichen Flüssigkeit überdestilliert ist. Nun wird das Destillat mit Schwefelsäure angesäuert, unter möglichster Vermeidung von Luftzutritt eingeengt, Kaliumhydroxyd zugefügt und mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird eingedunstet, wobei das in der Lösung enthaltene Ammoniak entweicht. Der Äther wird, nachdem die Dämpfe kein Ammoniak mehr enthalten, bei gewöhnlicher Temperatur zur Trockene gebracht, der Rückstand in Wasser gelöst und mit $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure titriert. Der Gesamtverlust an Nikotin bei diesen Operationen beträgt im Mittel 0,06 g, die also den gefundenen Werten zuzurechnen sind.

Verfahren von W. Koenig [Chemikerzeitung 35, 521 (1911)]: 20 g Tabakextrakt werden mit Seesand, dem 4 ccm einer Natronlauge 1 : 1 hinzugefügt wurden, verrieben und soviel Gips beigegeben, bis ein fast trockenes Pulver entsteht. Dieses wird mit 100 ccm Xylol (nach der Modifikation von Tóth) 2—3 Stunden digeriert, nach dem Absitzen, das sehr schön und schnell vonstatten geht, 30—40 ccm abfiltriert und polarisiert. Zur maßanalytischen Bestimmung werden 25 ccm des Filtrates mit 25—50 ccm $\frac{n}{10}$ Salzsäure und 50—75 ccm Wasser versetzt und nach Zugabe von 25 ccm Äther, dem vier Tropfen einer alkoholischen Auflösung von Jodeosin 1 : 500 zugesetzt wurden, kräftig geschüttelt und unter fortwährendem Schütteln mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge bis zur Blaßrosafärbung zurücktitriert. 1 ccm $\frac{n}{10}$ Salzsäure = 0,0162 g Nikotin. Die Art des Indikators ist für alle Nikotinbestimmungen von großer Wichtigkeit, je nach dem Indikator kann das Resultat auch bei gleich konzentrierten Lösungen sehr wesentlich differieren. Es ist deshalb nicht nur wichtig, stets ein und denselben Indikator zu benutzen, sondern auch das Auge mit dem betreffenden Umschlag genau vertraut zu machen. Es empfiehlt sich vielleicht auch, statt Jodeosin Cochenille (stets frisch bereitet) anzuwenden, dessen Umschlag von Blaßrot nach Farblos recht gut zu beobachten ist.

Von den Fällungsverfahren ist das zuverlässigste das nach Bertrand-Javillier, von den maßanalytischen das nach König und das gleich zu beschreibende nach Tóth. Das eleganteste, in kürzester Zeit auszuführende Verfahren, welches auch bei einiger Übung genaue Zahlen liefert, ist das von J. Tóth: Man zerreibt den lufttrockenen Tabak möglichst fein (es ist eine wesentliche Bedingung für die genauen Resultate nach dieser Methode, daß das Pulver äußerst fein zerrieben ist und von den Blattrippen keine größeren unzerriebenen Stücke zurückbleiben, die bei der Extraktion Nikotin zurückhalten könnten), verrührt 6 g in einer Porzellanschale mit 10 ccm Natronlauge von 20 % und gibt soviel Gips zu, bis die Masse pulverig geworden ist. Auch hier ist es sehr wesentlich, daß das Durcharbeiten mit der Natronlauge sorgfältig erfolgt und eine völlig durchtränkte Masse resultiert, in der aber keine zusammengebackenen Klumpen erscheinen dürfen. Das Durcharbeiten geschieht zweckmäßig mit zwei Nickelspateln, welche am Schlusse des Durchmischens mit Filtrierpapier quantitativ abgewischt werden, das

dann beim präparierten Tabakpulver verbleibt. Das ganze wird quantitativ mit zirka 100 ccm eines aus gleichen Teilen Petroläther-Äther hergestellten Gemisches in einen Kolben gespült und einige Zeit geschüttelt. Dann wird eine Stunde absitzen gelassen und möglichst schnell 25 ccm herauspipettiert. Zu dieser Menge gibt man 40—50 ccm Wasser und einen Tropfen Jodeosin (respektive Cochenille) und einen Überschuß von $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure; den Überschuß titriert man dann mit $\frac{n}{10}$ Natronlauge zurück. Von Tabaksaucen nimmt man 10 g in Arbeit. Von dem vorhandenen Ammoniak geht im Höchstfalle 0,0005 g in die 25 ccm der Petroläther-Ätherlösung über.

Koffeinbestimmung nach K. Gorter[1]): Das Koffein ist im Kaffee größtenteils in Form der Doppelverbindung chlorogensaures Kalikoffein enthalten, welcher das Koffein durch trockenes Chloroform nicht entzogen werden kann. Aus trockenem Kaffeepulver nimmt Chloroform auch bei neunstündiger Extraktionsdauer nur ein Zehntel der totalen Koffeinmenge auf. Wird aber das Kaffeepulver vorher mit Wasser durchfeuchtet, so gelingt es leicht, das gesamte Koffein innerhalb drei Stunden mit Chloroform zu extrahieren. 11 g sehr fein gepulverten Kaffees werden mit 3 ccm Wassers durchfeuchtet. Nach einer halben Stunde ist das Wasser genügend absorbiert; nun wird während drei Stunden im Soxhletschen Apparat mit Chloroform extrahiert. Man destilliert dann das Chloroform ab und zieht den aus Fett und Koffein bestehenden Rückstand mit heißem Wasser aus. Das Fett wird über einen dichten Wattepfropf abfiltriert und mit heißem Wasser nachgewaschen, so daß alles Koffein in das Filtrat gelangt. Dieses wird nach dem Erkalten mit Wasser bis zu 55 ccm aufgefüllt und hiervon 50 ccm abpipettiert. Man führt nun durch viermal wiederholtes Ausschütteln mit Chloroform das Koffein in dieses über und destilliert dann aus einem tarierten Kölbchen ab. Das rückständige Koffein ist von fast weißer Farbe und wird nach dem Trocknen bei 100° gewogen. Eine Hauptbedingung für die exakte Bestimmung ist feinstes Pulverisieren des Kaffees.

Koffeinbestimmung nach Lendrich und Nottbohm[2]): 20 g feingemahlener Kaffee werden mit 10 ccm Wasser versetzt und damit 1—2 Stunden stehen gelassen; dann wird das Pulver 3 Stunden mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert, dem Auszug 1 g Paraffin zugesetzt, der Tetrachlorkohlenstoff verdunstet und der Rückstand mit siedendem Wasser ausgezogen. Das abgekühlte Filtrat (200 ccm) wird bei Rohkaffee mit 10—15 ccm, bei geröstetem Kaffee mit 30 ccm 1prozentiger Lösung vom Kaliumpermanganat versetzt, nach ¼stündigem Einwirken das Mangan durch 3prozentiges Wasserstoffsuperoxyd, dem 3 % Essigsäure zugesetzt wurden (100 : 1), als Superoxyd gefällt, gekocht und abfiltriert. Das Filtrat wird zur Trockene verdampft, kurze Zeit bei 100° C getrocknet und mit wässerigem Chloroform erschöpft. Nach Verdunsten des Extraktions-

[1]) K. Gorter, Liebigs Annalen d. Chem. 358, 339 (1908).

[2]) K. Lendrich und E. Nottbohm, Zeitschr. f. d. Unters. v. Nahrungs- u. Genußmitteln 17, 241 (1909).

mittels wird das Koffein, das bei Rohkaffee rein weiß, bei geröstetem leicht gelbstichig ist, ½ Stunde bei 100 ° C getrocknet und gewogen.

Quantitativer Nachweis von Solanin nach v. Morgenstern: 100—200 g Kartoffeln werden zu einem feinen Brei zerrieben und unter Wasserzusatz mehrfach ausgepreßt; zweimalige Wiederholung genügt in der Regel. Aus den vereinigten Lösungen wird durch Zusatz von 0,5 ccm Eisessig und einstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade das Eiweiß ausgefällt. Das Filtrat vom Eiweißniederschlag wird zum Sirup eingedampft und mit 96prozentigem Alkohol unter Umrühren solange versetzt, bis ein weiterer Zusatz keine Trübung mehr hervorruft; nach zwölfstündigem Stehen wird die Lösung abgegossen. Der Rückstand wird zweimal mit heißem Alkohol ausgeknetet. Die alkoholischen Lösungen werden auf dem Wasserbad vom Alkohol befreit, mit essigsaurem Wasser aufgenommen, erwärmt, filtriert, zum Sieden erhitzt und tropfenweise mit Ammoniak gefällt. Nach fünf Minuten langem Stehen auf dem Wasserbade wird der entstandene Niederschlag gesammelt, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen und in siedendem Alkohol gelöst. Diese Lösung wird dann nach dem Verdampfen des Alkohols in der gleichen Weise noch einmal behandelt. Das Solanin kann auf einem bei 90 ° getrockneten Filter gesammelt und bei derselben Temperatur getrocknet, oder nach dem Lösen in heißem Alkohol in einem tarierten Schälchen zur Trockne verdampft werden. Andere Pflanzenteile werden vor dem Extrahieren bei 100 ° getrocknet, fein gemahlen und dann mehrmals bei Siedehitze mit essigsäurehaltigem Wasser ausgezogen.

Bei manchen kolloidalen Medien, z. B. in Farbstofflösungen wie Nachtblau, Nilblau, Wollviolett usw., erfährt die Oberflächenspannung und damit die Tropfengröße eine oft bedeutende Änderung, falls Stoffe zugesetzt werden, die als Kolloidgifte bezeichnet werden können, wozu auch die Alkaloide gehören. Die Kolloidgifte sind identisch mit Blutgiften, indifferente Stoffe dagegen ändern die Tropfengröße nicht, so daß solche „kolloidgiftige" Stoffe auch im Gemenge mit indifferenten Stoffen und in verschiedenen Lösungsmitteln nachgewiesen werden können. Für die Alkaloidbestimmung scheint Traubes kapillartitrimetrische Methode[1]) recht verwendbar zu sein. Wenn man eine mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid geimpfte Nachtblaulösung tropfenweise mit entsprechend äquivalenter Jodkalilösung versetzt, so nähert sich das Medium in dem Maße, als es „entgiftet" wird, wieder dem normalen Gleichgewichtszustande.

10 ccm einer 0,2prozentigen Nachtblaulösung (Tropfenzahl = 58,2) wurden mit zehn Tropfen $^1/_{40}$ äquivalenter $HgCl_2$-Lösung mit dem Tropfglas versetzt. Die Tropfenzahl betrug jetzt 45,5. Die folgende Reihe zeigt den Einfluß eines tropfenweisen Zusatzes von $^1/_{20}$ äquivalenter Jodkalilösung zu 10 ccm Nachtblau:

Tropfen JK:	1	2	3	4	5	6	7	8	10
Tropfenzahl:	46,2	46,1	48,25	52,05	54,2	54,3	51,05	50,2	49,9

Ein Tropfen äquivalenter $HgCl_2$-Lösung wie $^1/_{20}$ äquivalenter JK-Lösung entspricht sehr angenähert 0,09 ccm. An Stelle der be-

[1]) s. a. Berichte d. d. chem. Ges., Bd. **20**, 2644, 2824, 2829, 2831 (1887); Biochem. Zeitschr. **24**, 341 (1910).

quemeren Tropfgläser kann man natürlich auch feinere Tropfpipetten verwenden.

Ein Maximum der „Entgiftung" in obiger Reihe ist bei Zusatz von 5—6 Tropfen JK-Lösung zu sehen, dann macht sich der vergiftende Einfluß des überschüssigen Jodkalis geltend.

Bei Alkaloidtitrationen benutzt man Wollviolett und Tannin; bei hinreichender Verdünnung bleibt die Lösung vollkommen durchsichtig.

10 ccm 0,2 prozentiges Wollviolett	Tropfenzahl	55,65
dazu 1 Tropfen = 0,075 ccm 2 prozentiges Kokainchlorhydrat	,,	64,8
,, 1 ,, = 0,09 ,, 0,4 ,, Tannin	,,	63,7
,, 2 ,, = 0,09 ,, 0,4 ,, ,, ...	,,	63,2
,, 5 ,, = 0,09 ,, 0,4 ,, ,, ...	,,	61,9
,, 10 ,, = 0,09 ,, 0,4 ,, ,, ...	,,	60,6
noch weitere 5 Tropfen 2 prozentiges Tannin	,,	58,2
,, ,, 10 ,, ,, ,, ...	,,	55,4
10 ccm Wollviolett	,,	55,65
+ 1 Tropfen = 0,09 ccm 1/100 proz. Aconitinchlorhydrat .	,,	55,95
+ 2 ,, = 0,09 ,, ,, ,, .	,,	56,2
+ 4 ,, = 0,09 ,, ,, ,, .	,,	56,65
+ 10 ,, = 0,09 ,, ,, ,, .	,,	58,0
+ 20 ,, = 0,09 ,, ,, ,, .	,,	60,2
dazu 2 Tropfen 1/100 prozentiges Tannin	,,	—
,, 5 ,, ,, ,, ...	,,	59,9
,, 20 ,, ,, ,, ...	,,	59,55
,, 40 ,, ,, ,, ...	,,	58,4
,, 70 ,, ,, ,, ...	,,	56,95

XIV. Kautschuk.

Für die Analyse von Kautschukarten haben C. Harries, C. O. Weber und Th. Budde Methoden ausgearbeitet, die mehrfach modifiziert worden sind. Gelegentlich einer Untersuchung [1]) habe ich Veranlassung gehabt, diese Methoden vergleichend zu überprüfen und sie als in befriedigender Übereinstimmung untereinander befunden. Der Gang dieser Untersuchung sei hier beschrieben. Die etwa mannshohen Pflanzen von Lactuca viminea wurden zunächst mehrere Tage neben dem geheizten Ofen stehen gelassen, bis sich die Stammruten im Mörser zerstoßen ließen und dann möglichst fein gemahlen. Das Material wurde dann im Soxhletapparat bis zur Erschöpfung mit Petroläther behandelt, wobei ein klebriger, harzartiger Rückstand und eine gelbbraun gefärbte Flüssigkeit von schwach narkotischem Geruch erhalten wurden. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels hinterblieb schon in der Wärme ein körniger, gelblicher Rückstand mit allen Eigenschaften des Laktukons. Der harzige Rückstand nebst der gelbbraunen Flüssigkeit wurde nun mit 10 % alkoholischem Kali 24 Stunden am Rückflußkühler gekocht, wobei ein Teil der Substanz verseift wurde, von dem Ungelösten abfiltriert, mit Wasser und hierauf mit Alkohol nachgewaschen, getrocknet und gewogen. Der Rückstand wurde dann mit Schwefelkohlenstoff behandelt, wobei eine tiefbraune Lösung resultierte; nach Abdestillieren des Schwefelkohlenstoffs und Trocknen der Masse im Ölbade resultierte eine gelbgraue, beim leichten Erwärmen

[1]) V. Grafe und K. Linsbauer, Über den Kautschukgehalt von Lactuca viminea. Presl., Zeitschr. für das landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich 1909, 126.

elastische Substanz, die, angezündet, intensiv nach angebranntem Kautschuk roch. Dieser „Rohkautschuk" wurde in einem Kolben gesammelt, am Wasserbad mit frisch destilliertem Azeton solange behandelt, bis nichts mehr in Lösung ging, worauf die graue Masse nicht mehr klebrig war. Die zusammengeballten, mehr oder weniger elastischen Stückchen wurden der Kautschukanalyse unterworfen. Zunächst wurden sie in Schwefelkohlenstoff gelöst, durch Eingießen in Alkohol wieder gefällt, abfiltriert und im luftverdünnten Raum über Schwefelsäure getrocknet.

Die Methoden von Harries und Weber beruhen auf der Bestimmung der Produkte, die beim Einleiten von nitrosen Gasen in die benzolische Lösung des Kautschuks entstehen, die von Budde auf der Bildung des Tetrabromkautschuks durch Anwendung einer bestimmten Bromierungsflüssigkeit.

Bei der Behandlung einer wasserhaltigen benzolischen Kautschuklösung mit feuchter salpetrigen Säure erhielt Harries [1]) ein gelbes Produkt von der Zusammensetzung $C_{20}H_{30}N_6O_{14}$ — sein Nitrosit C —, das er für die quantitative Bestimmung von Kautschuk in Gemengen vorschlug. Die Nitrositmethode hat sich, von Fendler [2]) und Dietrich [3]) modifiziert, tatsächlich bewährt und in die Technik Eingang gefunden [4]).

1,5 g des gereinigten, mit Azeton extrahierten und getrockneten Produktes wurden mit 75 ccm Benzol übergossen und bis zur Lösung in der Kälte stehen gelassen (zirka drei Stunden). Zur Darstellung der salpetrigen Säure wurde Kartoffelstärke verwendet; 20 g gepulverte Stärke wurden mit HNO_3 (spezifisches Gewicht 1,3) übergossen und am Wasserbade bis zur Auflösung stehen gelassen. Sobald die ersten roten Dämpfe entweichen, muß der Kolben vom Wasserbad entfernt und die erste heftige Reaktion abgewartet werden. Nach fünf Minuten ist das erreicht und der Kolben wird mit dem Trockenturm verbunden, der mit glasiger Phosphorsäure in Stangen gefüllt ist, und nun mit dem Einleiten begonnen. Die Einleitung dauerte zwei Stunden. Das Benzol wurde dann vorsichtig durch ein Filter abgegossen, mit Benzol nachgewaschen und der Kolben samt dem gebildeten Nitrosit im Vakuumexsikkator getrocknet und gewogen. Dann wurden 50 ccm Azeton hinzugefügt, am Wasserbad einige Zeit erwärmt, durch ein gewogenes Filter durchgegossen und mit Azeton nachgewaschen. Das Becherglas wurde nach dem Trocknen zurückgewogen, das Filter getrocknet und dessen Inhalt — die eingelösten Anteile (Mineralsubstanzen) — vom Gewichte abgezogen. Die Gewichtsdifferenz zuzüglich dem Abzug für das Ungelöste ergibt die Menge des erhaltenen Nitrosits, aus welchem nach der Proportion:

$$289 : 136 = \text{gefälltes Nitrosit} : x$$

die Menge des enthaltenen Reinkautschuks berechnet werden kann. Diese quantitative Bestimmungsmethode wurde von Harries zwar zunächst nur für Parakautschuk durchgeführt, es zeigte sich aber später,

[1]) C. Harries, Zur Kenntnis der Kautschukarten. III., Ber. d. d. chem. Ges. **36**, 2, 1937 (1903).

[2]) Fendler, Ber. d. d. pharmak. Ges., Heft 5 (1904).

[3]) Dietrich, Chemiker-Zeitung **38**, 82, 974 (1903).

[4]) O. Gottlob, Über Einwirkung der salpetrigen Säure auf Kautschukarten, Zeitschr. f. angew. Chemie **20**, Heft 51, p. 2213 (1907).

daß auch aus ganz harzigen, schmierigen Produkten, wie aus dem mexikanischen Quagulekautschuk u. a., das Nitrosit *C* ebenso wie aus reinem Parakautschuk gewonnen und zur quantitativen Bestimmung des Reinkautschuks verwendet werden kann.

Die Methode von C. O. Weber[1]) beruht ebenfalls auf der Fähigkeit des Kautschuks, sehr leicht mit nitrosen Gasen zusammenzutreten. Das erforderliche Stickstoffdioxyd wurde durch allmähliches Erhitzen von Bleinitrat im schwer schmelzbaren Rohre gewonnen, das Gas wurde in die Benzollösung des entharzten Produktes geleitet, bis die Lösung eine tiefrotbraune Farbe angenommen hatte, das gelbbraune Reaktionsprodukt dann eine Stunde stehen gelassen und das Benzol durch ein Filter abgegossen. Die Masse, welche bei 50 ⁰ getrocknet worden war, wurde mit warmem Azeton behandelt und zum Fällen der Mineralsubstanzen einige Zeit stehen gelassen. Es schied sich tatsächlich eine kleine Menge anorganischer Substanz ab, die von der Azetonlösung abfiltriert und mit Azeton gewaschen wurde. Dann wird die Lösung in die zirka achtfache Menge gegossen, der Kolben dabei unablässig geschwenkt, der verschlossene Kolben dann noch zehn Minuten geschwenkt und vor dem Filtrieren 24 Stunden stehen gelassen. Das gelbe Reaktionsprodukt hat sich nach dieser Zeit zu Boden gesetzt und wird durch ein gewogenes Filter abdekantiert. Das Filtrieren an der Saugpumpe nimmt relativ lange Zeit in Anspruch. Die Trocknung des Filters samt Inhalt wird bei einer Temperatur von 60—65 ⁰ durchgeführt, bei welcher Temperatur eine Zersetzung des Produktes nicht stattfindet. Man erhält nach Weber die Menge des Reinkautschuks durch Multiplikation des Gewichtes des Nitroproduktes mit 0,6.

Schließlich hat Th. Budde[2]) eine Methode angegeben, die auf der Unlöslichkeit des Tetrabromkautschuks in Tetrachlorkohlenstoff beruht. Der zu untersuchende Rohkautschuk wird in Tetrachlorkohlenstoff durch längeres Stehenlassen gelöst (1 g Substanz in 100 ccm Tetrachlorkohlenstoff, davon 10 ccm zur Analyse verwendet und mit Tetrachlorkohlenstoff auf 50 ccm aufgefüllt) und nun die gleiche Volummenge der Bromierungsflüssigkeit, nämlich 16 g Br + 1 g J, gelöst in 1000 ccm Tetrachlorkohlenstoff, zufließen gelassen, wobei sich eine gallertartige Substanz abscheidet, welche nach Hinzufügung von absolutem Alkohol in eine beständige weiße Form übergeht. Die filtrierte und gewaschene Masse wird bei 60 ⁰ getrocknet; 456 g Tetrabromkautschuk entsprechen 136 g Reinkautschuk. Zu diesem Verfahren existieren Modifikationen von S. Axelrod[3]), der den Faktor mit 314 angibt, und von G. Fendler und O. Kühn[4]). Nach diesem wird der Kautschuk mit Toluol in einem mit Glasstöpsel verschließbaren 100 ccm fassenden Kolben übergossen, offen in ein Wasserbad gestellt und solange wiederholt geschüttelt, bis Lösung eingetreten

[1]) C. O. Weber, Zur Analyse des Kautschuks und der Kautschukwaren. Ber. d. d. chem. Ges. 36, 3, p. 3103 (1903).

[2]) Veröffentl. aus d. Gebiete d. Milit.-Sanit.-Wesens 1905, Heft 29; Chem. Centralbl. 1905, II, 175, ferner ebd. 1908, I, 2175.

[3]) Methode zur direkten Bestimmung des Kautschukgehaltes in Kautschukmischungen. Gummi-Zeitung 21, 1229 (1908).

[4]) G. Fendler und O. Kühn, Neue Studien über Kautschuk und Kautschukuntersuchung. Gummi-Zeitung Dresden 22, 132, 160, 215, 249 (1907). Aus dem pharmaz. Inst. d. Univers. Berlin. Chem. Centralbl. 1908, I, 491.

ist. Die Lösung wird über Glaswolle filtriert und davon 10 ccm unter Nachspülen mit Tetrachlorkohlenstoff in ein Becherglas gebracht und dieses in die Dämpfe eines siedenden Wasserbades gestellt. Nach Abdunsten des Lösungsmittels wird unter Umrühren mit 50 ccm Tetrachlorkohlenstoff aufgenommen und 50 ccm des Bromierungsgemisches hinzugegeben, dann 24 Stunden bedeckt stehengelassen. Nun werden unter Umrühren 50 ccm absoluten Alkohols hinzugefügt, das Tetrabromid abfiltriert, mit Tetrachlorkohlenstoff + Alkohol, dann mit Alkohol allein gewaschen, bei 50—60 ° getrocknet und gewogen. Erwähnt sei schließlich noch das für technische Zwecke ausreichende Alkaliverfahren, welches im wesentlichen darauf beruht, daß die Zellmembran durch Erhitzen mit starker Kalilauge aufgeschlossen wird, wobei der im getrockneten Ausgangsmateriale bereits koagulierte Kautschuk freiwillig austritt und sich schließlich auf der spezifisch schwereren Kalilauge ansammelt [1]).

XV. Gesamtanalyse.

In der Regel stellt man einen ernährungsphysiologischen Versuch in der Absicht an, die Veränderungen eines einzelnen Stoffes oder einer Stoffgruppe zu verfolgen, indessen ändern sich bei Veränderung einer Bedingung oder eines Bedingungskomplexes nicht nur die Verhältnisse, welche zu der gewünschten Abänderung führen, sondern infolge des bedingten Zusammenhanges aller Stoffwechselprozesse auch andere, nicht in den Bereich des Experimentes gezogene, was dann in Veränderung der Form oder Wachstumsverhältnisse zum Ausdruck kommt und sich häufig bei der Analyse auch durch Bildung von abweichenden Stoffwechselprodukten zeigt. So bringt eine Veränderung der Mineralstoffernährung eine Veränderung des Kohlehydratstoffwechsels mit sich; die osmotischen Verhältnisse der Nährlösung bedingen, wie wir heute wissen, Aufnahme oder Rückwanderung von Mineralstoffen in oder aus der Pflanze, die Darbietung von gasförmigem Formaldehyd hat ein Unterbleiben der Stärkeformation und eine vermehrte Bildung löslicher Zuckerarten zur Folge, Temperaturverschiebungen bewirken gegenseitige Umwandlungen von Fett und Stärke und schließlich verändert sich je nach den äußeren Bedingungen die Enzymarbeit. Daß die Enzymprozesse qualitativ und quantitativ mit dem Alter und Ernährungszustand der Pflanze wechseln, ist selbstverständlich und man sollte schon aus diesem Grunde für vergleichende Versuche nur nach allen Richtungen physiologisch gleiche Pflanzen verwenden. Infolgedessen wäre es richtig, nach Ablauf jedes Stoffwechselversuches nicht nur die Veränderungen jener Stoffgruppen zu studieren, auf deren Veränderung man hingearbeitet hat, oder nicht nur, wie das von den Pflanzenphysiologen in der Regel gemacht wird, sich auf die Messung der Pflanzenteile zu beschränken, also den Wachstumsverlauf zu verfolgen, sondern eine Gesamtanalyse der Pflanzen durchzuführen. Wenn ich

[1]) Alexander und Bing, Über die Gewinnung von Kautschuk aus getrockneten Kautschukpflanzen. Der Tropenpflanzer, 12. Jahrgang, Nr. 2. — Siehe ferner R. Ditmar, Die Analyse des Kautschuks usw., Wien 1908, und desselben Autors Sammelreferat in E. Abderhaldens Biochemischem Handlexikon VII,2, Berlin 1912.

z. B. finde, daß nach Einwirkung der „Laboratoriumsluft“ das Längenwachstum der Keimpflanze gehemmt ist, dagegen eine starke Verdickung eintritt, so sagt mir der ungewöhnliche Habitus zunächst noch nichts über die veränderten Stoffwechselvorgänge; wenn ich aber finde, daß der Turgor solcher Pflanzen stark erhöht ist und weiter eine Anhäufung von löslichen Kohlehydraten und Aminosäuren, von Fettsäuren, von Glyzerin konstatiere, so habe ich nicht nur eine plausible Erklärung für die Erhöhung des Turgors gefunden, sondern ich kann auch darauf schließen, daß durch die Laboratoriumsluft die abbauenden Enzyme ihre Arbeit ungehindert oder in verstärktem Maße durchführten, etwa so, wie das beim Unterbinden der regulierenden Plasmatätigkeit der Fall ist, die synthetisierenden Enzyme vielleicht in ihrer Wirksamkeit gestört waren. Vielleicht kann ich durch weitere Analyse das Auftreten solcher Enzymaktivatoren, respektive Enzymgifte feststellen; wollte ich nun weiter die Verhältnisse der Oberflächenspannung studieren, so könnte ich in deren Veränderungen einen Schritt näher zur Erkenntnis der Plasmatätigkeit machen und würde vielleicht in der Veränderung des Dispersionsmittels der Plasmamembran die Ursache finden, warum gewissen Stoffen der Eintritt und Austritt durch die Plasmahaut ermöglicht oder verwehrt wird und warum also diese oder jene Stoffwechselprodukte entstehen müssen. Die schönen Arbeiten von Lepeschkin, Tröndle, Czapek u. a. zeigen, daß wir durch derartige Feststellungen die Fragen des Stoffwechsels in den Sitz der Plasmatätigkeit selbst verlegen können und daß auf diese Weise auch Reizeffekte, die ja im Grunde natürlich auch nur auf Stoffwechselveränderungen zurückzuführen sind, ernährungsphysiologisch im weiteren Sinn des Wortes werden erklärt werden können. Wenn ich weiter durch Darbietung von gasförmigem Formaldehyd ein freudigeres Wachstum der Versuchspflanzen beobachte als unter gewöhnlichen Verhältnissen, so gibt mir eine Wachstumsmessung nur eine stärkere Verlängerung der Pflanzenteile innerhalb derselben Zeiten an, aber die chemische Analyse erst zeigt uns, daß die Bildung von löslichen Kohlehydraten statt der Stärke die normalstärkeführenden Pflanzen ebenso zu rascherem Wachstum veranlaßt, wie das biologisch bei vielen Pflanzen unserer Frühlingsflora, den sogenannten „Zuckerpflanzen“, schon längst erkannt war, welche die Assimilate auch nicht in Form von Stärke aufstapeln, sondern gleich den Verbrauchsstätten zuführen und welche aus diesem Grunde in schnellerem Wachstum die Erde durchbrechen können. Die weitere Analyse zeigt dann eine Förderung der amylolytischen Wirkung durch den Formaldehyd. Die Untersuchung des Mineralstoffwechsels würde wahrscheinlich auch einige Beiträge zur Erkenntnis des Vorganges liefern und so möchte ich empfehlen, den Ablauf eines jeden Stoffwechselversuchs auf breitester physikalisch-chemischer Basis zu kontrollieren. Man ist heute mit Recht zur Überzeugung gelangt, daß alle Vorgänge im Pflanzenkörper unter gegenseitiger Korrelation verlaufen, daß nicht nur die Nahrung im engeren Sinne wie Mineralstoffe, Kohlensäure, Stickstoffquelle in gegenseitiger Abhängigkeitsbeziehung stehen, sondern daß auch Licht, Feuchtigkeit, Temperatur den Ablauf und die gegenseitigen Beziehungen aller Stoffwechselvorgänge bei Veränderung dieser Einflüsse verschieben müssen. Es ist daher folgerichtig, daß man sich nur durch die Untersuchung aller in Betracht kommenden Bestandteile des Pflanzenkörpers, also nicht

etwa allein durch Wachstumsmessungen ein Bild von den eingetretenen Veränderungen wird machen können. Ein fernerer Fehler besteht darin, daß man die individuellen Verschiedenheiten zu wenig berücksichtigt, d. h. daß man gewöhnlich — woran freilich der Platzmangel und Materialmangel in unseren pflanzenphysiologischen Laboratorien schuld trägt — viel zu wenige Individuen für eine Serie von Vergleichsversuchen wählt. Nur durch sehr zahlreiche Pflanzen kann man die Fehler einengen, welche durch individuelle Schwankungen selbst dann eintreten, wenn man für Auswahl von Samen der gleichen Ernte, für Auswahl gleich großer und gleich gesunder Samen gesorgt hat. Das gilt natürlich nicht nur für die Wachstumsmessungen, sondern auch für die chemische Analyse, bei der es ebenfalls auf Mittelwerte ankommt. Hier noch eine Bemerkung. Bei der Wiedergabe der Versuchsresultate sollten die Zahlen immer solche Mittelwerte aus einer Reihe von Parallelversuchen darstellen und man sollte ein Ergebnis nicht für ein solches halten, wenn es nicht mit mindestens 500—600 untereinander vergleichbaren Pflanzen gewonnen ist. Wenn man sich dies zur Regel macht, wird auch die für den Leser höchst lästige Wiedergabe von Versuchsprotokollen wegfallen, welche ja nur für den Autor ein Mittel sind, das Ergebnis zu gewinnen, das allein den Leser interessiert. Man könnte durch Wiedergabe einer Zahl statt hunderter dem Leser viel Zeit und Mühe ersparen und überdies die Lektüre viel verständlicher und übersichtlicher gestalten.

Bei der *Gesamtanalyse wird man zunächst darauf zu achten haben, daß zahlreiche Verbindungen sehr leicht zersetzlich sind*, daß sie schon, wie die Eiweißstoffe, vielfach beim Trocknen im Trockenschrank zerfallen, daß also das Trocknen keinesfalls bei allzuhoher Temperatur erfolgen darf. Anderseits muß der Trocknungsprozeß doch wieder bei einer Temperatur erfolgen, die oberhalb des Wirkungsbereiches der Enzyme liegt, weil sonst leicht Enzymhydrolysen während des Trocknens stattfinden könnten. Deshalb ist es z. B. bei der Bestimmung von Glykosiden überhaupt nicht ratsam, das getrocknete Material zu verarbeiten, sondern man nimmt die frischen Pflanzenteile und unterbindet die Arbeit der glykosidspaltenden Enzyme, indem man sie in kochenden Alkohol wirft. Auch bei der Bestimmung der Fette geht man ähnlich vor, indem man die vorher eventuell ausgequetschten oder abgepreßten Samen zuerst mit Alkohol mehrmals auskocht, die ausgekochte Masse gut abpreßt und bei gelinder Temperatur trocknet, dann in einer Mühle fein zermahlt und im Extraktionsapparat mit Petroläther völlig extrahiert. Stehen nur kleine Mengen von Samen oder dergleichen zur Verfügung, so umgibt man sie mit mehreren Lagen Filtrierpapier und preßt sie so in der Presse aus; das Fließpapier saugt dann das herausgepreßte Fett auf und kann später zusammen mit den Samen extrahiert werden. Das Trocknen soll keinesfalls bei höherer Temperatur als bei 110 ° C erfolgen, aber auch bei dieser Temperatur erfolgen häufig Zersetzung organischer Substanz und unkontrollierbare Veränderungen. Die Oxydationsfermente, welche noch bei sehr hohen Temperaturen wirksam sind, färben die Pflanzen meist braun infolge Bildung von Phlobaphenen aus Gerbstoffen, die Extrakte sind dann immer mehr oder weniger gefärbt, aus den Kohlehydraten entstehen schon bei relativ niederer Temperatur Karamelprodukte unter dem Einflusse anderer Stoffe. Deshalb ist es in allen diesen Fällen not-

wendig, bei einer niedrigeren Temperatur als bei 100 ⁰ zu trocknen, aber im Interesse der rascheren Trocknung ist es geboten, im Vakuum zu erwärmen. Solche Vakuumtrockenschränke und Exsikkatoren sind heute in ziemlich vollendeter Konstruktion bekannt. Am zweckmäßigsten erscheint mir der von A. S k i t a beschriebene *Vakuumexsikkator*, der in feinem helmartig gewölbten Deckel zwei Glühlampen aus Rubinglas trägt, die durch Steckkontakt an jede elektrische Leitung angeschaltet werden können und den Exsikkatorraum heizen, während er an die Luftpumpe angeschaltet ist, welche den Luftdruck vermindert. So konnten bei 40 ⁰ C in der Stunde 25 ccm abgedampft werden. Solche Trocknungsapparate lassen sich aber auch direkt aufs geheizte Wasserbad stellen oder besitzen einen Doppelmantel, in den Wasser eingefüllt und auf beliebige Temperatur erwärmt werden kann. Die wasserentziehenden Medien innerhalb des Exsikkators bestehen meistens aus konzentrierter Schwefelsäure, Ätzkalistangen, Chlorkalzium, gebranntem Gips. Will man überhaupt das Erhitzen auf höhere Temperatur vermeiden, so kann man auch chemische Trocknungsverfahren anwenden, indem man das zerkleinerte Material mit feingemahlenem, gebranntem Gips innig vermengt; man kann dann die Masse, aus der der Gips das Wasser an sich gezogen hat, mit irgendeinem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel extrahieren. Mit entwässertem Natriumsulfat als Trocknungsmittel habe ich bei anthokyanführenden Organen wie Rosenblättern u. dgl., gute Erfahrungen gemacht, deren Farbstoff schon beim Trocknen an der Sonne braun und mißfarbig wird. Auch hier ist es übrigens zweckmäßig, die Enzymtätigkeit durch siedenden Äther zu unterbinden. Sehr gute Resultate liefert das Trocknen durch *Einwerfen des Materials in flüssige Luft.* Die Pflanzenteile sind nach dem Herausnehmen staubtrocken und können mit Leichtigkeit im Mörser gepulvert werden. Das getrocknete Material muß dann für die Extraktion oder Aschenbestimmung oder für die Sublimation weitgehend zerkleinert werden, was in Mörsern, Mühlen, Reibschalen mit oder ohne Zufügung eines zerreibenden, scharfkantigen Mediums, wie Quarzsand oder Glaspulver, geschehen kann.

Eine sehr rationelle und elegante Reindarstellungsmethode organischer Substanzen ist die S u b l i m a t i o n, welche durchaus nicht nur auf einige besonders flüchtige Substanzen beschränkt ist, sondern beinahe alle Körperklassen der organischen Chemie umfaßt, wenn man von den Kohlehydraten und Eiweißstoffen absieht. Aber auch viele hochmolekulare Verbindungen sublimieren unzersetzt, wenn man die Operation bei vermindertem Druck ausübt. Sehr zu beachten bei der Sublimation, die man am gewöhnlichsten in kleinen Porzellantiegeln ausführt, die oben mit einem durch Wasserfüllung gekühlten Uhrglas bedeckt sind, ist die Art und der Grad der Erhitzung. Manche Substanzen sublimieren am besten bei sehr rascher Erhitzung, manche besser bei allmählicher. Einen *einfachen Sublimationsapparat* mit Wasserkühlung kann man sich aus einem Becherglas und einer Eprouvette selbst herstellen, indem die Eprouvette mittels eines Korkes, der auch noch ein Thermometer trägt, in das Becherglas eingesetzt und in die Eprouvette durch ein langes Glasrohr Wasser eingeführt wird, das durch ein kurzes Rohr dieselbe wieder verläßt, so daß die Eprouvette wie ein Kühler wirkt. Auf den Boden des Becherglases kommt die Substanz, welche durch die Heizfläche, auf welche der Apparat gestellt ist, bis

zu ihrer Sublimationstemperatur erhitzt wird, wobei sich die sublimierenden Teile an die gekühlten Wandungen der Eprouvette anlegen. Für Sublimation unter Minderdruck verwendet man einen aus drei Teilen zusammengeschliffenen Apparat, bestehend aus einer Birne zur Aufnahme des Sublimationsgutes, einem längeren Rohr, in dem die Birne durch Schliff festsitzt, zur Aufnahme des Sublimates und einer abschließenden Haube zur Verbindung mit der Luftpumpe. Die Erhitzung der Birne erfolgt am besten im Luftbade eines Trockenschrankes. Wollen wir uns über den Mineralstoffgehalt der Pflanzenteile ein Bild machen, so darf man natürlich nicht die Analyse der Asche zugrunde legen, denn sie enthält nicht nur die ursprünglich in ionisierter Form vorgelegenen Mineralbestandteile, sondern auch die in den zerstörten, organischen Komplexen vorhanden gewesenen Aschenelemente, die also im Pflanzensaft oder im Gewebe direkt durch Ionenreagenzien nicht nachgewiesen werden konnten. Namentlich Eisen, Phosphor, Stickstoff, also die mit Eiweißstoffen in Verbindung stehenden Elemente, aber auch andere Mineralstoffe liegen in solcher organisch gebundenen, „maskierten“ Form vor und ihr Nachweis mit Ionenreaktionen kann erst gelingen, wenn die organische Bindung zerstört ist. Ja, es ist sogar wahrscheinlich, daß kein einziger Mineralstoff im Pflanzenkörper in Ionenform wandert, sondern daß er, in den Bereich der Stoffwechselprozesse gezogen, sofort in organische Bindung übergeführt wird, und wenn er doch in Ionenform auftritt, als Stoffwechselexkret zu gelten hat. Will man sich ein möglichst genaues Bild von dem Vorkommen und der Bindungsweise der anorganischen Bestandteile machen, so muß man mit Wasser und ganz verdünnter (2prozentiger) Salzsäure Extrakte herstellen, welche man nach den für die qualitative und quantitative chemische Analyse geltenden Regeln [Einleiten von H_2S, Fällung mit $(NH_4)_2S$, $(NH_4)_2CO_3$, also den „Gruppenreagenzien“ der analytischen Chemie] untersucht. In solche Extrakte gehen wohl hauptsächlich oder ausschließlich die in anorganischer Form im Gewebe vorhandenen Mineralstoffe hinein, während die Bindung an organische Komplexe intakt bleibt. Nach sorgfältigem Trocknen kann man dann den Pflanzenrückstand der Veraschung unterwerfen und findet in der Asche die organisch gebunden gewesenen Mineralsubstanzen; oder man führt die Verbrennung der organischen Substanz auf feuchtem Wege durch, wobei allerdings ein Teil der Säurebestandteile (Chloride, Nitrate, Sulfate) der Bestimmung entgeht.

Zu den in der Regel zunächst mit der Pflanzensubstanz vorgenommenen Bestimmungen gehört die *Bestimmung der Feuchtigkeit*, der allerdings infolge der immer vor sich gehenden Zersetzungen Unsicherheiten anhaften. Man bestimmt das Wasser der „lufttrockenen“ Substanz, d. h. die Feuchtigkeit, welche die zerkleinerten Pflanzenteile beim Lagern im Exsikkator über wasserentziehenden Agenzien bis zum konstanten Gewicht abgeben, und das Wasser des im Trockenschrank bei 110 ^{0} getrockneten und ebenfalls bis zur Gewichtskonstanz daselbst belassenen Materials. (Das Auskühlen nach Herausnehmen aus dem Trockenschrank bis zur Wägung muß ebenfalls im Exsikkator erfolgen. Bei genaueren Bestimmungen wägt man die Substanz zwischen aufeinandergeschliffenen, mit Spange zusammengehaltenen Uhrgläsern; beim Erwärmen und Abkühlen im Exsikkator muß natürlich das eine Uhrglas entfernt werden. Man trocknet entweder im Dampftrocken-

schrank oder im thermoregulierten Kasten, aber immer im Luftbade, also nie so, daß das Uhrglas direkt auf der erhitzten Metall- oder Asbestfläche aufruht.)

Über die Art der trockenen und nassen Veraschung sind bereits oben ausreichende Angaben gemacht worden; es sei hier nur auf den sehr zweckmäßigen und dabei einfachen Apparat von E. J. Aps aufmerksam gemacht, der von der Firma Dr. Hodes & Göbel modifiziert und in den Handel gebracht wurde (Fig. 81). Auf einem Dreifuß, dessen Ring *R* ein rinnenförmiges Kugellager enthält, wird eine die Stützen für die Tiegelhalter tragende Ringscheibe *S* mit schräger Seitenfläche mittels eines Keilantriebes *K* in Bewegung gesetzt; die kleine Vollscheibe *s* verhindert das Hochkippen von *S*. Die Träger *T* sind an der Spitze eingekerbt, um Dreiecke von verschiedener Seitenlänge aufnehmen zu können. Die Flamme des mit gebogenem Aufsatze versehenen Brenners bespült den Tiegel *t* von der Seite, so daß auf der Gegenseite stets wieder Sauerstoff zutreten kann. Es lassen sich mehrere Dreifüße dieser Konstruktion nebeneinander aufstellen, ohne daß eine weitere Antriebsvorrichtung nötig ist, da dann die Ringschichten *S* sich gegenseitig in Bewegung setzen, so daß die Scheibe *s* dann wegfällt. Bei diesem Apparat läßt sich die

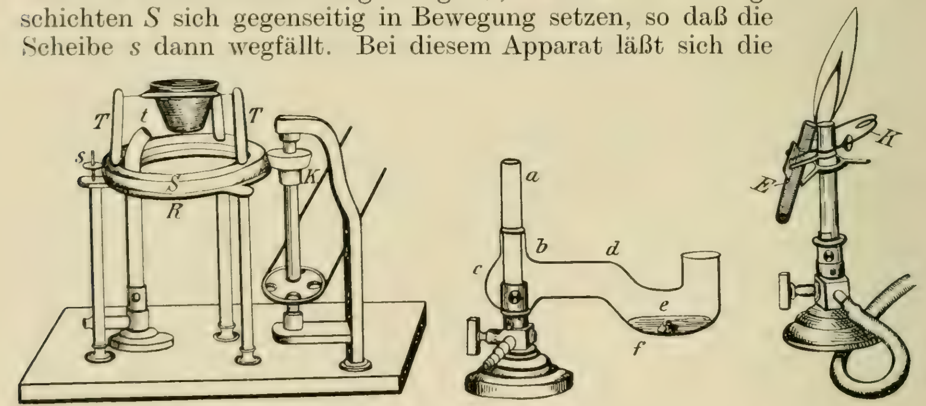


Fig. 81. Apparat von Aps. Fig. 82. Fig. 83. Lockemanns Zerstäubungsapparat.

Veraschungstemperatur durch Änderung der Drehungsgeschwindigkeit und durch Verstellung der Flammengröße beliebig regulieren. Hochsiedende Flüssigkeiten, wie konzentrierte Schwefelsäure, Glyzerin, lassen sich so leicht abrauchen und eine Überhitzung einzelner Tiegelstellen läßt sich leicht vermeiden. Das Verflüchtigen von Alkalisalzen und das lästige Verspritzen beim Entfernen des Kristallwassers kann vollkommen vermieden werden. Die angekohlte Substanz kann bisweilen durch Zufügung von wenig 3prozentiger Wasserstoffsuperoxydlösung oder reinem (vollkommen flüchtigen) Ammoniumnitrits zur völligen Verbrennung gebracht werden.

Zum qualitativen Nachweis der Alkalien und Erdalkalien bedient man sich, namentlich wo es sich um sehr geringe Substanzmengen handelt, der *Spektralanalyse*. Statt die zu prüfende Substanz mit dem Platindraht in die Flamme einzubringen, bedient man sich zweckmäßig der von E. Beckmann angegebenen Methode, welche darin besteht, daß man die Probelösung durch die *Bläschen eines entwickelten Gases zum feinen Zersprühen* bringt und der Sprühnebel des Salzes mit dem

zur Unterhaltung der Flamme notwendigen Luftstrom in diese bringt. Dadurch erreicht man eine andauernde Färbung der ganzen Flamme und nicht nur eine flüchtige eines einzelnen Flammenteiles wie durch Platindraht, der sich überdies mitunter schwer vollkommen ausgleichen läßt. Zur Gasentwicklung wird Zink und Salzsäure verwendet, wobei man vorher die kleinen Zinkgranula *f* durch Schütteln mit einer ½prozentigen Kupfersulfatlösung und nachheriges Abwaschen mit Wasser aktiviert. Für die Zerstäubung sind eigene, am Bunsenbrenner anzubringende *Gaszerstäuber* konstruiert (Fig. 82), die Luftzuführungsöffnung liegt dann innerhalb der kugeligen Erweiterung *c* des Apparates *c b d e f*. Bringt man in den U-förmigen Teil *e* des Zerstäubers die zu untersuchende, mit Salzsäure (nicht Salpetersäure oder Schwefelsäure) angesäuerte Salzlösung und einige Stückchen verkupfertes Zink, so zeigt die Bunsenflamme bei *a* bald die Färbung des zerstäubten Salzes. Der Säurezusatz darf nicht größer sein, als daß die entwickelten Gasbläschen gerade eine Trübung der Flüssigkeit, aber keine Schaumblasen bilden; wäre das der Fall, dann müßte durch Zusatz von Wasser, durch Einstellen des Zerstäubers in Eiswasser oder vorsichtigen Zusatz von Ammoniak für Herabsetzung der Gasentwicklung gesorgt werden. Man kann schon mit ganz kleinen Lösungstropfen auf diese Weise Färbungen erzielen, verwendet aber in der Regel zirka 5 ccm Flüssigkeit. Sehr bequem erscheint mir die einfache Anordnung von G. Lockemann, durch die man den Sprühnebel der Salzlösung von außen der Flamme zuführt (Fig. 83). Die angesäuerte Salzlösung bringt man mit einigen Stückchen verkupferten Zinks in ein gewöhnliches Glühröhrchen *E* und befestigt dieses mit der Klammer *K* an den schiefgestellten Bunsenbrenner; die Öffnung des Glühröhrchens befindet sich etwas oberhalb der Mündung des Brenners, damit dieser durch verspritzte Säuretröpfchen nicht leidet. Das Spektroskop wird so eingestellt, daß man oberhalb des inneren Flammenkegels in die Flamme blickt. Zweckmäßig stellt man, um sich die Spektrallinien der einzelnen Metalle einzuprägen, Vergleichslösungen von Salzen her und entwirft deren Spektra parallel in einem Vergleichsprisma. Zum Nachweis von Eisen bedient man sich der Blaufärbung von Ferrosalzen mit Ferrizyankali und der Ferrisalze mit Ferrozyankali oder der Rotfärbung mit Rhodansalzen. Meist führt man Ferrosalze durch Kochen mit Salpetersäure oder mit Bromwasser in Ferrisalze über; man darf aber nicht die mit Salpetersäure gekochten Lösungen in der Hitze mit gelbem Blutlaugensalz versetzen, da auch ohne Anwesenheit von Eisensalzen durch die oxydierende Wirkung der heißen Salpetersäure auf das gelbe Blutlaugensalz Blaufärbung eintreten kann. Auch die Rhodanreaktion kann, in der Hitze ausgeführt, ohne Vorhandensein von Eisen rotbraune Färbungen erzeugen, anderseits kann bei zu großem Salpetersäureüberschuß eine anfänglich infolge Gegenwart von Eisensalzen sich ergebende Rotfärbung wieder zerstört werden. In der Asche, namentlich in der andauernd stark geglühten, scheidet sich bisweilen das Eisen als braunes, in Wasser und Säuren unlösliches Oxyd ab, das nach Auflösung der Asche in verdünnter Säure abfiltriert und zur Bestimmung durch Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure oder Schmelzen mit Kaliumbisulfat in Lösung übergeführt werden muß. Bei sehr geringen Eisenmengen kann man zur quantitativen Bestimmung die kolorimetrische Methode verwenden, indem man eine gewogene Menge der Asche in einem be-

stimmten Volumen verdünnter Säure löst oder das Säuregemisch der nassen Veraschung auf ein bestimmtes Volumen bringt und nun 1 ccm einer 10prozentigen Rhodankalilösung zusetzt, wodurch die charakteristische, je nach der Eisenmenge mehr oder weniger intensive rotbraune Färbung erzielt wird. Durch passende Verdünnung von Ferrisalzlösungen bekannten Gehaltes stellt man eine Farbenstufenleiter her, indem man zu jeder der Vergleichslösungen die gleiche Menge Rhodanlösung zusetzt und nun die erzielten Färbungen mit der Färbung der Probelösung vergleicht. Mit dieser Methode habe ich die Erfahrung gemacht, daß ihre Fehlergrenze unter 1 % liegt; man kann noch 5 mg Eisen im Liter damit quantitativ genau feststellen. Weniger genau, aber immerhin noch befriedigend kann man auch das Mangan in den mit Salpetersäure durch Kochen oxydierten Lösungen bestimmen, die man bis zur Trockene verdampft und wieder mit starker Salpetersäure aufnimmt, indem man die stark salpetersaure Lösung mit einer Messerspitze voll Bleisuperoxyd kocht; man läßt absitzen und filtriert die durch Bildung von Übermangansäure violettrot gefärbte Lösung durch Asbest in einen kolorimetrischen Vergleichszylinder, neben welchen man solche stellt, die mit entsprechenden Verdünnungen von $\frac{n}{10}$ Kaliumpermanganatlösung beschickt sind. 1 ccm $\frac{n}{10}$ $KMnO_4$ entspricht 1,1 mg Mangan. Sind größere Mengen Mangan in der Probe, so versetzt man die ursprüngliche Lösung der Asche mit Ammoniumpersulfat, erhitzt einige Minuten zum Kochen, filtriert das abgeschiedene Mangansuperoxyd über Asbest und bringt den Asbest samt Niederschlag in ein Becherglas, setzt eine abgemessene Menge $\frac{n}{10}$ Oxalsäure und verdünnte Schwefelsäure zu, erhitzt und verdünnt mit kochendem Wasser, worauf man die unzersetzte Oxalsäure mit gestellter Permanganatlösung zurücktitriert. Jeder Kubikzentimeter der verbrauchten Oxalsäure entspricht 2,75 mg Mangan.

Zur Gewinnung und Bestimmung der in Pflanzenteilen vorhandenen organischen Stoffe wird die Sublimation oder (bei flüchtigen Substanzen) die Destillation, schließlich und hauptsächlich die Extraktion verwendet. Zum Ausziehen in der Kälte benutzt man entweder das Ausschütteln im Schütteltrichter mit der Hand oder auf der Schüttelmaschine oder bei der Bewältigung größerer Mengen das Perkolieren, namentlich beim Arbeiten mit Alkaloiden. Man wird bei der Extraktion im allgemeinen immer bis zur völligen Erschöpfung des Materials arbeiten, d. h. solange, bis einige Tropfen des Perkolates keine Reaktion auf den zu gewinnenden Stoff mehr erkennen lassen. Man kann diesen Moment häufig daran erkennen, daß eine anfangs gefärbte Flüssigkeit farblos abläuft. Sind die Extrakte von vornherein farblos, so verdunstet man von Zeit zu Zeit eine kleine Menge des Extraktes auf einem Uhrglas, wobei kein Rückstand hinterbleibt, wenn die Extraktion beendigt ist. Fettlösungen kann man auf Papier tropfen lassen und einen Fettfleck entstehen sehen, wenn noch Fett in Lösung ist. Willstätter verwendet zur Extraktion von Chlorophyllfarbstoff aus getrockneten Pflanzenteilen *gläserne Perkolatoren* von ½—1 Liter bis 15 Liter Inhalt. Große Perkolatoren aus Steinzeug sind weniger zerbrechlich und billiger, aber wegen ihres größeren Gewichtes schwer

zu handhaben. Vor dem Einfüllen des Pflanzenpulvers wurde das trockene Mehl mit 0,3 Liter per Kilogramm durchfeuchtet und in hölzernen Bottichen 3—4 Stunden stehengelassen. Dann wurde es gesiebt und in die Perkolatoren eingefüllt, deren Boden zunächst mit einer dünnen Schicht Watte versehen wurde, die als Filter wirkt. Das Material muß ziemlich lose, aber doch gleichmäßig eingefüllt und leicht gestampft werden. Ist es zu fest gedrückt, so verstopft sich das System leicht; ist die Füllung zu locker und ungleichmäßig, dann findet das Lösungsmittel Kanäle, durch die es abläuft, ohne zu extrahieren; die untere Grenze des herabsickernden Lösungsmittels soll einen fast horizontalen Kreis bilden. Bei den Perkolatoren mit 3 Liter Inhalt wurde einfach eine 6-Literflasche mit Alkohol umgestülpt und auf den oberen Rand des Perkolators gesetzt; sie entleert sich in dem Maße, als der Alkohol unten abfließt. Für die großen Perkolatoren (mit 9 kg Pflanzenpulver gefüllt) wurden Flaschen mit je 17 Liter Alkohol hochgestellt, welche aufgeschliffene Helme tragen; eine Glasröhre geht durch den Halm bis fast auf den Boden der Flasche, eine zweite Röhre mündet im Helme, beide führen in den Perkolator bis dicht über die Füllung; dadurch wird der Zufluß des Alkohols automatisch reguliert, der Perkolator selbst ist oben zur Abhaltung von Feuchtigkeit mit einer geschliffenen, mit Schlitz für den Durchzug der Glasröhren versehenen Platte bedeckt. Wann man das Extraktionsmittel ablaufen lassen kann, d. h. wann es gesättigt ist, hängt natürlich von der Menge des zu extrahierenden Materials ab, hier bei den großen Perkolatoren dauerte die Erschöpfung 25 Stunden. Das Ablaufrohr des Perkolators trägt einen Gummischlauch, an dem ein längs des Perkolators aufrechtstehendes Glasrohr befestigt ist, welches als Steigrohr dient.

Die perkolierte oder in der Wärme extrahierte Lösung muß nun vom ausgezogenen Material getrennt werden. Am besten geschieht das durch *Zentrifugieren*. Wo Zentrifugen nicht zur Verfügung stehen, filtriert man durch Papier- oder Asbestfilter am Büchnerschen Nutschtrichter an der Wasserstrahlpumpe. Das Filtrieren geht häufig, wenn schleimige oder die Filterporen verstopfende Substanzen zugegen sind, sehr langsam vor sich. Besser läßt man die Lösung mehrere Stunden ruhig stehen und zieht die oberhalb des Niederschlags befindliche klare Flüssigkeit, ohne diese aufzurühren, mit Pipette oder Heber ab und bringt nur den Rest auf die Nutsche. Jedenfalls presse man diesen Rest ebenso wie auch das Ausgangsmaterial nach dem Perkolieren oder Extrahieren in einer starken Presse ab, da es immer noch erhebliche Flüssigkeitsmengen einschließt. Die Extrakte müssen dann gewöhnlich weiter gereinigt und geklärt werden, sei es durch Filtrieren mittels eines Pukallfilters, sei es durch mechanisches Niederreißen der Trübungsstoffe durch Kaolin, Bolus oder Kieselguhr, sei es durch Schütteln mit Holzkohlenpulver oder durch Fällen mittels Schwermetallsalze wie Bleiazetat. Bei allen diesen Verfahren muß man sich bewußt bleiben, daß ein verlustloses Arbeiten mit denselben möglich ist. Zum Abdampfen des Lösungsmittels bedient man sich am besten der Destillation unter vermindertem Druck.

Die zurückbleibende organische Substanz wird man zunächst auf das Vorhandensein von anorganischen Bestandteilen prüfen, welche zurückgelassen werden, wenn man die Substanz am Platinblech verbrennt. Um eine Substanz aschefrei zu erhalten, vorausgesetzt, daß es sich

um mechanische Beimengungen, nicht um konstitutive Bestandteile handelt, kann man sie fraktioniert lösen oder fällen, bei nicht dialysierenden wasserlöslichen Körpern kann man sich der Dialyse bedienen, wobei man zur Erleichterung der Dialyse etwas freie Säure zusetzen kann, falls die Substanz nicht darunter leidet. Man prüft ferner, ob die Substanz Stickstoff, Phosphor oder Schwefel enthält. Zur *Prüfung auf Stickstoff* erhitzt man 0,05—0,1 g der Substanz in einer trockenen Eprouvette mit einem Stückchen metallischen Natriums, taucht die heiße Eprouvette in Wasser, so daß sie zerspringt und das überschüssige Natrium sich zersetzt und weist in der filtrierten Flüssigkeit nach dem Ansäuren mit Salzsäure das aus der Verbindung der Stickstoffsubstanz mit Natrium hervorgegangene Zyannatrium als Berlinerblau nach, indem man die Lösung mit einigen Tropfen Eisenvitriol und Ferrichlorid kocht. Nicht immer, so bei manchen Enzymen, läßt sich nach Tschirch der Stickstoff auf diese Weise erkennen, sondern man erhitzt die Substanz mit einem Stückchen Ätzkali und prüft, ob ein mit Salzsäure befeuchteter Fichtenspan durch die sich entwickelnden Dämpfe gerötet wird (Pyrrolreaktion). Durch Erhitzen mit Natrium läßt sich auch der Schwefel nachweisen; das gebildete Schwefelnatrium erzeugt, mit Wasser befeuchtet, auf einer blanken Silbermünze einen schwarzen Fleck. Durch Erhitzen mit Ätzkali und Salpeter wird der Schwefel zu Schwefelsäure (die sich dann mit Bariumchlorid nachweisen läßt), der Phosphor zu Phosphorsäure oxydiert, welche mit molybdänsaurem Ammon oder mit Magnesiamixtur erkannt werden kann.

Die Extraktion des Pflanzenmaterials wird nicht wahllos mit irgendeinem Extraktionsmittel, sondern in Form eines systematischen Ganges nacheinander mit verschiedenen Lösungsmitteln vorgenommen, wobei man mit dem betreffenden Lösungsmittel je 50 g Substanz warm extrahiert und kalt perkoliert. Man extrahiert 1. mit Petroläther (Siedepunkt 35—40 ^{0}) oder Äther. Der Auszug enthält Fette, Wachse, Phosphatide, Säureester, Harze, Terpene, Chlorophyll und färbende Substanzen, eventuell Alkaloide und Glykoside. Die letzteren kann man aus dem Petroläther durch Ausschütteln mit angesäuertem Wasser entziehen. Macht man das Wasser alkalisch und schüttelt es wieder mit Petroläther, so geht das in Freiheit gesetzte Glykosid oder Alkaloid in den Petroläther über und kann durch Verdunsten des Lösungsmittels aufgefunden werden. Man wägt das Pflanzenmaterial vor und nach der Extraktion in getrocknetem Zustand und erfährt so die Menge der durch Petroläther extrahierbaren Bestandteile. Von der mit Wasser ausgeschüttelten petrolätherischen Lösung destilliert man den Petroläther ab und nimmt den Rückstand mit siedendem 90prozentigem Alkohol auf, in dem sich alle noch vorhandenen Stoffe mit Ausnahme der Hauptmenge des Fettes auflösen. Immerhin geht in den Alkohol auch ein Teil des Fettes über, den man aber durch Abdampfen des Alkohols und Anwendung von Äther, Benzol, verdünntem Alkohol usw. von den übrigen Bestandteilen trennen kann. Man dampft den Alkohol ab und versucht durch fraktionierte Fällung mit Wasser, Äther, Benzol die einzelnen Stoffe voneinander zu trennen, was mit Hilfe von Spezialreaktionen gelingt.

Den Rückstand von der Extraktion mit Petroläther behandelt man, nachdem man den Petroläther durch Ausbreiten des Materials an der Luft und Erwärmen vollkommen vertrieben hat, mit absolutem

Äther, der eventuell andere Alkaloide, Glykoside usw. aufnimmt, die man auch wieder, wie vorher, aus dem Rückstand durch Aufnehmen desselben mit Alkohol, angesäuertem Wasser usw. isoliert. Zuletzt zieht man das Pflanzenmaterial mit Chloroform aus, wodurch man für vollkommene Entfernung aller der genannten Substanzen aus den Pflanzenteilen Sorge getragen hat, denn Petroläther, Äther, Chloroform wirken im wesentlichen gleichsinnig. Als nächstes Extraktionsmittel wird 2. 55prozentiger Alkohol angewendet, der Extrakt enthält Gerbstoffe, Glykoside, Salze organischer Säuren, einen Teil der Zuckerarten, was man auch wieder mit Hilfe von Spezialreaktionen untersucht. Man befreit den Extrakt durch Destillation vom größten Teil des Alkohols und fällt die verbleibende Flüssigkeit mit Äther. Es fallen Gerbstoffe und Alkaloidsalze, die man in Wasser auflösen kann; in Wasser ungelöst bleiben die färbenden Phlobaphene, Zersetzungsprodukte von Gerbstoffen, die in Alkalien löslich sind und aus dieser Lösung durch Säuren wieder ausgefällt werden können. Den Rückstand von der Alkoholextraktion extrahiert man 3. mit kaltem destilliertem Wasser, welches die Zuckerarten, Salze, Gummi, Schleim und Eiweißstoffe enthält, soweit sie nicht durch die vorangegangene Behandlung unlöslich gemacht, bzw. bereits extrahiert worden waren. Man versetzt mit dem gleichen Volumen Alkohol: dadurch fallen Schleim, Eiweiß und ein Teil der Salze aus; man löst wieder in Wasser und trennt die Salze durch Dialyse von Schleim und Eiweiß und durch Erhitzen mit Essigsäure das Eiweiß von Schleim. Durch Kochen mit Wasser wird die Stärke dextriniert, schwerlösliche Schleime, ferner Inulin, Hemizellulosen usw. gehen in Lösung und können durch Alkohol ausgefällt werden. Schließlich extrahiert man das Pflanzenmaterial 4. mit sehr verdünnter (1prozentiger) Salzsäure oder Schwefelsäure zuerst in der Kälte durch mehrtägiges Schütteln. Schwerlösliche organische Salze, schwerlösliche Alkaloide und Eiweißstoffe gehen jetzt in Lösung. Erhitzen mit verdünnten Säuren erzeugt aus Stärke und Hemizellulosen reduzierende Zucker, welche sich nun im Extrakt vorfinden. Durch Erwärmen mit 5prozentiger Natronlauge zieht man außer Eiweißstoffen Hemizellulosen, Pentosane und andere Membranstoffe aus, auch Phlobaphene gehen in Lösung. Diese sukzessive Extraktion wird also über die wichtigsten Inhaltskörper Aufschluß geben.

Solche Gesamtanalysenwerte auf Grund von ernährungsphysiologischen Versuchen wurden von F. Darwin und H. Acton durchgeführt. Man muß sich aber bei solchen Schulversuchen vor Augen halten, daß die Pflanzen sehr große Unterschiede bieten und daß unter denselben Verhältnissen gezogene Pflanzen durchaus nicht immer dieselben oder auch nur ähnliche Ergebnisse bieten müssen. So enthielten einmal die Keimlinge von Onobrychis sativa, welche einige Zeit ins Dunkle gestellt worden waren, kaum Spuren von Amiden und ein andermal konnte nicht eine Spur Weinsäure im Safte von Beta gefunden werden, welche gewöhnlich hinreichende, leicht auffindbare Mengen dieser Säure enthält. Die qualitative Prüfung des Natronlaugeextraktes von 8—10 Wochen alten Keimlingen von Onobrychis sativa ergibt größere Mengen von in Wasser unlöslichem Eiweiß und der Extrakt gibt beim Neutralisieren eine reichliche Fällung; die wässerige Lösung enthält ebenfalls einige Eiweißstoffe und bisweilen in wechselnden Quantitäten Peptone und Albumosen, dagegen stets beträchtliche Mengen

von Amiden, während Ammoniak, Nitrate und Nitrite gewöhnlich fehlen. Die quantitative, vergleichende Analyse von Samen und Keimlingen bei Onobrychis ergab, auf lufttrockenes Material bezogen:

	Samen	Keimlinge normale	Keimlinge etiolierte
Wasserunlösliches Eiweiß . .	64,3 %	17,8 %	8,0 %
Wasserlösliches Eiweiß	2,8 %	4,1 %	4,2 %
Peptone und Albumosen . . .	—	0,7 %	0,5 %
Aminosäuren	Spuren	0,5 %	5,9 %
Ammoniak, Nitrate, Nitrite. .	—	—	—

Die Keimlinge enthielten, wenn sie verdunkelt und bei Sauerstoffausschluß gezogen worden waren, 2,8 % Ammoniak, solche, welche in Sandkultur, begossen mit einer $^1/_2$prozentigen Lösung von Ammoniumnitrat, gezogen worden waren, 1,3 % Ammoniak, 1,7 % Nitrate und 0,8 % Nitrite.

Keimlinge von 15—20 Tage alten Lepidium sativum-Pflanzen liefern ein Öl, welches durch wässeriges oder alkoholisches Alkali unverseifbare Bestandteile enthält; nach der Verseifung ergaben sich beträchtliche Quantitäten Glyzerin. Die auf Trockensubstanz (getrocknet bei 100° C) bezogenen quantitativen Werte sind:

	Samen	Samen mit einige mm hervortretenden Würzelchen	Keimlinge mit Samenresten
Öl und Fett	30,2 %	23,7 %	5,2 %
Glyzerin aus der Verseifung von 100 g des bei 100° C getrockneten Materials	3,1	1,8	0,5

Der alkoholische Extrakt der Rinde von Salix viminalis gibt, nachdem die Rinde vorher mit Benzol extrahiert worden war, um die Harze, färbenden Substanzen usw. zu entfernen, viel Tannin, welches am besten mit Hautpulver gefällt werden kann, ebenso durch mehrmaliges Behandeln mit Bleiazetat. Von Glukosiden ist gewöhnlich Salizin in leicht auffindbaren Mengen und von löslichen Zuckerarten etwas Dextrose vorhanden. In den jungen, noch unreifen Früchten von Musa sapientum findet man reichlich Gerbstoffe und wenig Zucker, in den reifen beide Verbindungen in großen Quantitäten.

Die Blätter von Tropaeolum majus werden zur Prüfung auf Zuckerarten zunächst mit Benzol, dann mit Alkohol und Wasser ausgezogen. Nach Ausfällung der Gerbstoffe kann Dextrose, Rohrzucker und Maltose (mit B a r f o e d schem Reagens, 4 % kristallisiertes Kupferazetat und 1 % Essigsäure) nachgewiesen werden. Für die quantitative Analyse wählt man Blätter von Beta vulg., die durch Chloroformdampf getötet und dann getrocknet worden sind. Sie liefern nur wenig oder keinen Zucker. 3—4 % reduzierendem Zucker (Laevulose) aus Inulin findet man dagegen in den Blättern von Cichorium Intybus. In den Wurzeln von Beta, die am Ende des Sommers geerntet wurden, findet man Unmengen von reduzierenden und Rohrzucker, so daß aus den gereinigten Säften direkt Kristallisation erhalten werden kann, aber wenig oder keine Maltose. Die quantitativen Werte, auf bei 100° C getrocknetes Material

bezogen, sind: Gesamtzucker (als Glykose berechnet) in den Blättern 0,2 %, in den Wurzeln 6,8 %.

Die Bestimmung der Stärke in Kartoffeln ergibt 57 %, bezogen auf Trockengewicht, in den Blättern von Acer pseudoplatanus, die am Abend geerntet wurden, im Mittel 4 %, in den am frühen Morgen geernteten 2,4 %. Die Zahlen wechseln bei den Blättern ziemlich stark, die größten Unterschiede zwischen Tag- und Nachtblättern treten dann ein, wenn auf eine warme, feuchte Nacht ein sonniger, klarer Tag gefolgt ist. Der Betrag an Stärke in Weizenkörnern ist 59,6 %, in Keimlingen, die drei Tage im Dunkeln gehalten worden waren, 3 %.

Zur Prüfung auf freie oder gebundene organische Säuren eignet sich der Preßsaft im Vergleich von jungen und alten Rhabarberblättern oder der von jungen und reifen Äpfeln und am besten Zuckerrübenwurzeln, welche wechselnde Mengen von Essigsäure, Glykolsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Oxalsäure, Bernsteinsäure und Akonitsäure enthalten. Die Gesamtazidität des Saftes kann durch Titration mit $\frac{n}{2}$ Barytwasser gegen Phenolphthalein und Beziehen auf eine dieser Säuren bestimmt werden.

Azidität, berechnet als Oxalsäure bei jungen Blattstielen von Rheum raponticum	0,6 %,	bei alten Blattstielen	2,2 %	bezogen auf Lebendgewicht
Azidität, berechnet als Oxalsäure bei unreifen Äpfeln	1,2 %	„ reifen Äpfeln	0,3 %	
reduzierender Zucker bei unreifen Äpfeln	0,8 %	„ „ „	4,6 %	
Rohrzucker bei unreifen Äpfeln	—	„ „ „	0,9 %	
Maltose „ „ „	—	„ „ „	—	

Was die Asche anlangt, so wurde die Gesamtasche bei normalen Kartoffelblättern (4,7 %) und bei etiolierten (2,5 %) bestimmt. Die vergleichende Bestimmung der Asche von jungen Blättern und Samen bei Weizen ergab 4 % P_2O_5 in Blättern, 48,5 % in Samen und 21,4 % Alkalien (Na_2O, K_2O) in Blättern und 7,9 % in Samen, bezogen auf das Gewicht der Gesamtasche. Die Asche von jungen und alten Blättern von Sempervivum ergab 1,3 %, respektive 4,1 % Kaliumoxalat, bezogen auf das Lebendgewicht der Blätter. Zur Bestimmung des Einflusses der allgemeinen Vegetationsbedingungen werden je 15—20 g kräftiger Spirogyra-Fäden *A* bei 30 ° C getrocknet und das Trockengewicht bestimmt, die andere Portion *B* wird in gewöhnlichem Wasser bei hellem Sonnenlicht gehalten. Nach 24 Stunden wird eine Zunahme des Trockengewichtes bei *B* um 2,6 g gefunden; die Zunahme an Eiweiß (Stickstoff × 6,3) beträgt nach 24 Stunden bei einem Anfangsgewicht von 21,5 g 0,8 g, die Zunahme an Zellulose 1,3 g. Der Einfluß von Mineralstoffdarreichung auf die Stärkebildung kann gezeigt werden, wenn man junge Blätter von Sparganium natans *A* in destilliertem Wasser, *B* in einer Nährlösung am Licht bei freiem Luftzutritt mehrere Tage vegetieren läßt. In *A* ist 0,4 % Stärke, in *B* 6,5 %, in *A* 1,1 % Asche, in *B* 4,8 %, bezogen auf bei 100 ° C getrocknetes Material. Die Veränderungen, die sich während der Keimung im Reservematerial eines Fettsamens unter verschiedenen Bedingungen geltend machen, lassen sich folgendermaßen veranschaulichen: Es werden drei Portionen zu zirka 10 g, *A*, *B*, *C*, von lufttrockenen Hanfsamen genommen,

Vergleich der Trockensubstanzen bei in H_2CO

Nr.	Kulturbedingungen	In H_2CO ohne CO_2	Normal	In H_2CO ohne CO_2	Normal	In H_2CO ohne CO_2	Normal	In H_2CO ohne CO_2	Normal
	Datum	3. Mai		14. Mai		19. Mai		24. Mai	
1	Trockengewicht von zehn Samen. Bei den Formaldehydpflanzen sind alle Werte aus 20 Exemplaren für 10 berechnet	3,379	3,39	3,489	3,0993	2,7018	2,7947	2,6972	2,565
2	Trockengewicht der Testa	0,602	0,5045	0,3662	0,5846	0,199	0,2142	0,236	0,29
3	Trockengewicht der Samen ohne Testa demnach . .	2,777	2,8855	3,1228	2,5147	2,5028	2,5805	2,4612	2,275
4	Trockengewicht der Kotyledonen nach dreitägiger Kultur der Pflanzen	1,442	0,8655	1,817	1,5886	0,9018	1,1146	1,699	2,036
5	Gewicht des Embryo demnach.	1,335	2,02	1,3058	0,9261	1,601	1,4659	0,7622	0,239
6	Trockengewicht d. Wurzeln	0,2669	0,2206	0,322	0,2832	0,5016	0,378	0,457	0,3459
7	Trockengewicht der oberirdischen Organe	0,5948	0.5488	0,43	0,5445	0,5576	0,51	0,3493	0,3055
8	Trockengewicht der ganzen Pflanzen demnach . . .	0,8617	0,7694	0,752	0,8277	1,0592	0,888	0,8063	0,6514
9	In Prozenten des testalosen Samens ausgedrückt ca.	31%	26,6%	24%	32%	42%	34%	32,8%	28,6%
10	In Prozenten des Embryo	64,3%	38%	57,6%	89%	66%	60%	106%	273%
11	Bei normaler Kultur hätten die Samen nach ihrem Gewicht entsprechend den normalen Pflanzen ausbilden müssen . . .	0,7669	0,7694	0,9317	0,8277	0,8585	0,888	0,685	0,6514
12	Tatsächlich haben sie ausgebildet	0,8617	0,7694	0,752	0,8277	1,0592	0,888	0,8063	0,6514
13	Differenz	+0,0948	—	−0,179	—	+0,2007	—	+0,1213	—
14	Entsprechend dem Embryonalgewicht der normalen Pflanzen hätten sie ausbilden müssen	0,5085	0,7694	1,166	0,8277	0,968	0,888	2,0774	0,6514
15	Differenz	+0,3532	—	−0,414	—	+0,0912	—	−1,2711	—

B und *C* auf feuchten Asbestplatten keimen gelassen und, wenn die Plumula eine Länge von 2—3 cm erreicht haben, wird *B* in eine Kulturglocke bei Ausschluß von Kohlensäure gebracht, *C* unter dieselben Bedingungen, jedoch bei ungehindertem Zutritt von Kohlensäure.

ohne CO_2 und normal gezogenen Pflanzen.

In H_2CO ohne CO_2	In H_2CO ohne CO_2	Normal	In H_2CO ohne CO_2	In H_2CO ohne CO_2	Normal	In H_2CO ohne CO_2	In H_2CO ohne CO_2	Normal	In H_2CO ohne CO_2	In H_2CO ohne CO_2	Normal
30. Mai			7. Juni			11. Juni			25. Juni		
2,5667	2,7111	2,7778	2,9118	2,9948	2,6772	2,8754	3,005	2,9329	2,55646	2,3739	2,6067
0,2937	0,2341	0,2415	0,361	0,4831	0,22	0,2285	0,5142	0,2919	0,4243	0,371	0,217
2,273	2,477	2,5363	2,5508	2,5117	2,4572	2,6469	2,4908	2,461	2,13216	2,0029	2,3897
1,133	1,628	1,425	2,248	2,1047	2,0878	1,8656	1,8578	2,0293	0,20316	0,2339	0,2745
1,14	0.849	1,1113	0,3028	0,407	0,3694	0,7813	0,633	0,6197	0,929	1,769	2,1152
0,2081	0,543	0,4732	0,085	0,1073	0,068	0,2132	0,1843	0,143	0,59	0,5822	0,4705
0,4031	0,169	0,221	0,1245	0,1	0,1295	0,4298	0,1518	0,1745	1,18	1,1643	0,9412
0,6112	0,712	0,6942	0,2095	0,2073	0,1975	0,643	0,3361	0,3175	1,77	1,7465	1,4117
26,9%	29%	27%	9%	8%	8%	24%	13,5%	12%	83%	87%	59%
54%	83,9%	62%	69%	50,6%	53%	82,5%	53,3%	51%	92%	99%	66,6%
0,6414	0,677	0,6942	0,2144	0,2209	0,1975	0,3182	0,3235	0,3175	1,3044	1,2853	1,4117
0,6112	0,712	0,6942	0,2095	0,2073	0,1975	0,643	0,3361	0,3175	1,77	1,746	1,4117
−0,0302	+0,035	—	−0,0049	+0,0136	—	+0,3248	+0,0126	—	+0,3856	+0,4607	—
0,7121	0,5303	0,6942	0,162	0,2176	0,1975	0,4003	0,3243	0,3175	1,2874	1,1806	1,4117
−0,1009	+0,1817	—	+0,0475	−0,0103	—	+0,2427	+0,0118	—	+0,4826	+0,566	—

B und *C* werden 14 Tage bei günstigem Licht und zusagender Temperatur gehalten, dann durch Chloroformdampf getötet und bei 25 bis 30 ° getrocknet. Die Trockengewichte der drei Proben nach dem Versuch sind:

Trockengewicht	A 10 g	B 4,2 g	C 11,1 g	
Eiweiß (Gesamtstickstoff 6,3) .	21,2 %	14,6 %	28,4 %	bezogen auf das bei 30° C getrocknete Material
Öl und Fett	37 %	—	6,2 %	
Stärke	—	—	12,8 %	
Zellulose	18,6 %	63,1 %	25,5 %	
Zucker	—	Spuren	Spuren	

Über die Beziehungen zwischen Eiweiß, Fett, reduzierendem Zucker und Inulin bei Samen und im Licht, respektive Dunkeln gewachsenen Keimlingen von Cichorium Intybus geben folgende Zahlen ein Bild:

Dunkelkeimung:

Keimlinge	Größe der Keimlinge	Gesamtstickstoff %	Eiweißstickstoff %	Fett %	Säurezahl	Reduzierender Zucker %	Inulin %	Wasser
Samen		3,49	1,4	17,8	1,2	0,84	0,98	7,01
nach 2 Tagen . .								
Würzelchen . .	0,5—1 cm	3,74	0,71	10,0	1,2	0,42	0,84	—
nach 4 Tagen Stengel	0,5—1 cm	3,32	0,7	9,2	6,8	2,03	0,95	—
„ 6 „ „	1—2 cm	3,36	0,6	7,4	3,2	3,34	1,82	—
„ 8 „ „	2,5—3,5 cm	3,5	0,6	6,5	5,8	2,86	2,00	—
„ 10 „ „	3,5—5 cm	3,2	0,6	5,8	6,3	2,12	2,86	—

Lichtkeimung:

Keimlinge	Größe der Keimlinge	Gesamtstickstoff %	Eiweißstickstoff %	Fett %	Säurezahl	Reduzierender Zucker %	Inulin %	Wasser
nach 3 Tagen . .	höchstens 1 cm	3,0	1,7	10,8	3,9	2,5	0,82	—
„ 6 „ . .	1—2 cm	3,6	1,8	6,7	—	1,5	—	—
„ 9 „ . .	2—3 cm	3,2	1,8	5,0	—	3,0	0,5	—
„ 12 „ . .	3—4 cm	—	—	4,9	—	2,8	2,1	—

Es zeigt sich also schon nach zweitägiger Keimung eine rapide Verminderung von Fett und Monosen, während das Inulin relativ wenig abnimmt. Schon nach vier Tagen ist auf Kosten des Fettes das Dreifache des ursprünglichen Samenzuckers gebildet. Bei der Lichtkeimung vermindert sich der Fettgehalt schneller als bei der Dunkelkeimung, der reduzierende Zucker hat auch hier nach dreitägiger Keimung stark zugenommen, aber die Kondensation zu Inulin erscheint im Lichte gehemmt; nach sechs Tagen ist überhaupt kein Inulin vorhanden, da das Reserveinulin bei der Keimung verbraucht, neues aber noch nicht gebildet wurde. Wir sehen also Fett in reduzierenden Zucker übergehen, dieser wird aber nicht wie bei der Dunkelkeimung neben dem Aufbau von Zellsubstanz zu Inulin kondensiert, sondern offenbar gleich im Baustoffwechsel weiter verarbeitet, in den auch das vorhandene Inulin eingeht. Was die Beträge an reduzierendem Zucker und Inulin in den einzelnen Pflanzenorganen anlangt, so sind in der Mittelrippe von im Freien kräftig erwachsenen Zichorienpflanzenblättern durchschnittlich 9,5 % Lävulose und 3,5 % Inulin enthalten, in der Blattspreite 2,8 % Lävulose und 3 % Inulin, in der Wurzel 1 % Lävulose und 52 % Inulin. Bei Blättern, welche des Morgens und Abends untersucht wurden, fand sich im Gegensatz zu den Stärkeblättern (in welchen

am Morgen die Stärke zum größten Teil zu Zucker hydrolysiert ist, so daß am Morgen keine Stärke vorgefunden wird) kaum ein Unterschied im Betrage von Lävulose und Inulin, bei der Wurzel geht mit dem Verlaufe der Vegetationsperiode eine sukzessive Anreicherung an Inulin vor sich, während der Lävulosebetrag gleichzeitig bis zu einem Minimum abnimmt, um von da, entsprechend einem Gleichgewichtsvorgang zwischen Inulin und Lävulose wieder zuzunehmen:

In Prozent der Trockensubstanz	Blattspreite		Mittelrippe u. Blattstiel		Wurzel Tage alt				
	morgens	abends	morgens	abends	55	62	74	85	120
Lävulose . . .	2,64	2,9	9,8	9,4	4,3	3,4	2,7	0,9	4,94
Inulin	2,9	2,9	3,7	4,24	21,4	30,6	48,9	52,29	60,85
Fett	2,2	3,95	2,0	2,93	2,2	1,2	1,1	0,91	0,31

Über die Verhältnisse, die sich im Trockengewicht der einzelnen Pflanzenteile ausdrücken, nachdem die Pflanzen unter abnormalen Bedingungen erzogen worden sind, gibt die Tabelle auf p. 310, 311 Aufschluß. Die Pflanzen waren hier je 14 Tage in Formaldehyddampf von zirka 0,05 Vol.-Proz. bei Ausschluß von Kohlensäure gezogen worden, die aus dem Kulturraum durch konzentrierte Ätzkalilösung entfernt worden war. Es war schon früher davon die Rede, daß bei Phaseolus vulgaris die Verluste an Trockensubstanz durch Atmung so groß sind, daß eine Vermehrung der Trockensubstanz gegenüber dem Samengewicht vor dem 20. Kulturtage nicht eintritt. Daher ist auch in den genannten Versuchen stets ein Minus zu konstatieren, welches aber bei den Formaldehydpflanzen in der Regel kleiner ist als bei den normalen oder gar kohlensäurefrei gezogenen. Wenn man nicht an eine Depression der Atmung durch Formaldehyd und damit eine dauernde Instandhaltung des Trockengewichtes denken will, was mit den Erfahrungen mit Äther und anderen Stimulantien nicht in Einklang stünde, kann man aus dieser Beobachtung wohl auf eine Trockensubstanzvermehrung auf Kosten des Formaldehyds schließen. Durch Vergleich der Daten für die Gewichte von Samen- und Pflanzentrockensubstanz sind die Proportionen gegeben, welche zu berechnen gestatten, was die einzelnen Serien bei normaler Kultur gebildet haben müßten und was sie mit Formaldehyd ohne Kohlensäure tatsächlich an Trockensubstanz ergeben haben.

XVI. Das Sterilisieren höherer lebender Pflanzen.

Keine ernährungsphysiologische Arbeit dürfte mit höheren Pflanzen ausgeführt werden können, wenigstens soweit es sich um organisches Nährsubstrat handelt, solange es nicht möglich ist, die Kulturen steril zu halten. Aber selbst in anorganischen Nährlösungen ist es auf die Dauer schwer, Infektion hintanzuhalten, da abgestoßene Wurzelanteile oder abgestorbene Pflanzenteile die Veranlassung zur Ansiedelung von Mikroorganismen geben.

Gerade die Aufzucht von normal autotrophen Pflanzen in Nährlösungen, denen organische Substanzen beigegeben sind, ist ein Problem, dem viele neue Beobachtungen und Fragestellungen erwachsen dürften. So habe ich es mit Rücksicht darauf, daß die Wurzeln der höheren Pflanzen ihre Nährstoffe dem Substrat in Ionenform entnehmen, und

mit Rücksicht auf die starke Herabsetzung der Giftwirkung von sonst toxischen Elementen in wenig dissoziierten Verbindungen versucht, die Bestandteile der normalen Nährlösung bei höheren Pflanzen durch wenig oder gar nicht dissoziierte organische Verbindungen zu ersetzen, also z. B. KNO_3 durch Kaliumstereat und Äthylnitrat usw., aber wiewohl höchst interessante Erscheinungen auftreten (Bohnen wachsen z. B. ausgezeichnet in Schmierseife und bilden ein ganz merkwürdiges Wurzelsystem aus), konnten doch keine publikationsfähigen Resultate erhalten werden, da trotz aller Vorsichtsmaßregeln sehr bald Pilzinfektion und damit eine unkontrollierbare Veränderung der Nährlösung eintrat. Zu welchen Irrtümern mangelnde Sterilität der Pflanzenkulturen führt, beweist eine ausgedehnte Untersuchung von Lefèvre, welche die Lösung der Frage bezweckte, ob die Pflanzen auch bei vollständigem Mangel an Luftkohlensäure ihren ganzen Kohlenstoffbedarf aus Aminosäuren, wenn diese ihrem Nährsubstrat hinzugefügt werden, zu entnehmen imstande sind und ihre Gewebe damit aufbauen können. Auf Sterilhaltung der Kulturen wurde kein Gewicht gelegt, weil, wie Lefèvre ausführt, die verwendeten Aminosäuren und Säureamide bei Gärung und Fäulnis als letzte Produkte der Bakterientätigkeit auftreten, demnach kein Substrat ihres Stoffwechsels bilden könnten. Meine Nachprüfung dieser Untersuchungen [1]), aus welchen Lefèvre den Schluß gezogen hatte, daß höhere Pflanzen bei Ausschluß von CO_2 ihren gesamten Kohlenstoff- und Stickstoffbedarf dem Aminosäurensubstrat entnehmen können, ergab, daß höhere Pflanzen in kohlensäurefreier Atmosphäre auch bei Vorhandensein von Aminosäuren zugrunde gehen, sobald ihre Reservestoffe aufgebraucht sind, vorausgesetzt, daß für möglichst sterile Kulturen gesorgt wird. In den Versuchen des französischen Forschers aber hatte das Moos, welches als Substrat benutzt wurde, in seiner Atmung Kohlensäure abgegeben und Bodenbakterien hatten aus den Aminosäuren Ammoniak freigemacht, welche beiden dann von den grünen Keimlingen zum Aufbau ihrer Körpersubstanz verwendet worden waren.

In meinen Versuchen wurden die lufttrockenen Samen mit einer 1 ‰ Sublimatlösung mit der Bürste gerieben, dann in sterilisiertem, destilliertem Wasser sorgfältig abgespült und dann in der bekannten Hansenschen Kammer auf Filtrierpapier keimen gelassen, das vorher im strömenden Dampf sterilisiert, steril in die Kammer gebracht und mit sterilisiertem Wasser befeuchtet worden war. Die Kulturgläser wurden im Dampftopf sterilisiert, mit Filtrierpapier umwickelt zur Kammer gebracht, von der Hülle befreit und rasch hineingeschoben. Drinnen wurden sie mit Organtin bespannt und mit der vorher bereiteten und sterilisierten organischen Lösung beschickt. Dann wurden nach Entfernung der Testa die Bohnen durch die Maschen gesteckt und nun möglichst rasch in die mit Sublimat gewaschene, völlig adjustierte und neben die Kammer aufgestellte Glocke gebracht. Nach jeder Sublimatwaschung muß natürlich sorgfältig mit sterilisiertem Wasser nachgespült werden. Zwischen Testa und Samen sitzen die Bakterienkeime besonders hartnäckig fest; es ist deshalb zweckmäßig, die abgezogenen

[1]) V. Grafe, Untersuchungen über die Aufnahme von stickstoffhaltigen organischen Substanzen durch die Wurzel von Phanerogamen bei Ausschluß der Kohlensäure. Sitz.-Ber. d. kais. Akad. d. Wiss. Wien 118, (1909).

Samenschalen sofort in ein innerhalb der Kammer befindliches Gefäß mit Sublimatlösung zu werfen und die angekeimten, von der Testa befreiten Samen vor dem Hineinstecken in den Organtin noch einmal kurz in sterilisiertes Wasser zu tauchen und dort leicht mit Filtrierpapier abzureiben. Das Hantieren innerhalb der Hansenschen Kammer wird leicht und völlig steril durch eng an den Armen anliegende ziehharmonikaartige Kautschukmanschetten ermöglicht, die an den beiden seitlichen Fenstern der Kammer befestigt sind und durch welche die nackten Arme durchgesteckt werden, nachdem alles (Arme, Manschetten, Fenster usw.) gründlich mit Sublimatlösung und Bürste abgerieben wurde. Durch den paraffinierten Kork der Kulturglocke ragt ein geräumiger Tropftrichter, der mit der sterilisierten Nährlösung beschickt wurde und statt des Glasstöpsels oben einen gedrehten, abgeflammten Wattepfropf trägt, wie er für die in der bakteriologischen Technik verwendeten Eprouvetten gebraucht wird. Statt der 1 $^0/_{00}$igen Sublimatlösung bewährt sich besser eine 1 prozentige Bromlösung wegen ihrer stärkeren Desinfektionskraft und wegen des Umstandes, daß das verdunstende Bromgas auch den Luftraum der Hansenschen Kammer sterilisiert. Eine ähnliche Methodik wurde auch von Grafe und von Portheim[1]) mit Erfolg angewendet.

In neuerer Zeit hat sich Iw. Schulow der Frage angenommen, wie es möglich wäre, Kulturen steril zu erhalten, bei denen die Sprosse aus den Behältern normalerweise in der freien Luft sich entwickeln, wobei die Infektion des Substrates sehr leicht geschehen kann. Ich gebe im folgenden Schulows Schilderung der Methode wieder[2]):

Hohe Glaszylinder enthielten je sieben Liter recht verdünnter Nährlösung. In jedes Gefäß wurde oben dicht auf Watte ein Holzdeckel miteingebohrten (zu zwei großen und zwei kleineren) Öffnungen hineingedrängt. Diese Rundplatte adhärierte an den Gefäßwandungen vermittels dreier daselbst eingeschraubter Häkchen. In die breiten Öffnungen wurden alsdann auf Watte (zu je zwei auf ein Gefäß) zylindrisch kegelförmige Röhrchen r (Fig. 84) hineingesteckt, während in die eine der engen Öffnungen ein langes Glasröhrchen eingeführt wurde, das fast bis an den Boden des Gefäßes reichte und von außen mit einem großen Pfropfen aus Watte und Abzweigungen versehen war, während die andere Öffnung ein kurzes Röhrchen trägt. Das lange Rohr dient zum Ausblasen der Luft, seine Abzweigung zur Entnahme von Proben des Substrates vor Abbruch des Versuches, um die Sterilität festzustellen. Das kurze Röhrchen läßt die Verbindung mit dem kleinen Kolben herstellen, in dem sterilisiertes Wasser oder Nährlösung sich befindet, die so steril in das Kulturgefäß gebracht werden können. In das zylindrisch kegelförmige oben durch Schlauch k und Quetschhahn v verschlossene Röhrchen, das unten mit einem Netz n umbunden wurde, trat bis zu letzterem ein etwas längeres, zylindrisches Glasröhrchen, um das sterilisierte und gequollene Samenkorn aufzunehmen. In den unteren Teil des äußeren Rohres bis zur Höhe von 7—8 cm vom Netz wurde Watte w_1 in kleinen Bäusch-

[1]) V. Grafe und L. v. Portheim, Untersuchungen über die Rolle des Kalkes in der Pflanze. Sitz.-Ber. d. kais. Akad. d. Wiss., Wien **115** (1906).

[2]) J. Schulow, Zur Methodik steriler Kultur höherer Pflanzen. Ber. d. deutschen bot. Ges. **29**, 504 (1911).

chen untergebracht, welche nicht allzustark zusammengedrückt wurde. Oberhalb dieses Vorrates von Watte wurde ein (zirka 1 cm) Zwischenraum *zw* belassen, durch den das innere Rohr sichtbar wurde, und noch höher, bis zum Ende des breiten Rohres *K*, befand sich ein kompakter Pfropfen aus Watte *w*, in welchen bis zur unteren Watte drei Glasstäbe *g* eingelassen wurden, die nach oben so weit hervorragen, daß man nachträglich mit ihnen möglichst gut die untere Watte verdichten konnte.

Die dergestalt montierten Behälter (überdies noch von oben mit einer genügenden Schicht Watte bedeckt) wurden dreimal jedesmal zwei Stunden lang vermittels Dampfes bei 100° sterilisiert, alsdann mit speziellen Samensterilisatoren verbunden, mit deren Hilfe die Körner mittels Bromwasser 20 Minuten sterilisiert, ausgewaschen und gequollen, in das innere zylindrische Röhrchen eingeführt wurden. Am achten bis zehnten Tage vom Beginn des Hervortreibens der oberirdischen Teile des Keimlings *sp* an erheben sich dieselben innerhalb dieses Röhrchens und gelangen in den Zwischenraum inmitten des Vorrates von sterilisierter Watte ober- und unterhalb des breiten äußeren Rohres. In diesem Moment fand die Befreiung des Keimlings statt, und zwar folgendermaßen: Allmählich, zu ½ cm auf einmal, wurde das innere zylindrische Röhrchen emporgehoben und nach jeweiligem Emporheben die untere Watte möglichst stark mit den Glasstäben festgedrückt. Der große Vorrat an Watte des zylindrischen Teiles im breiten Rohr wurde auf diese Weise in die sich verengende halbkugelförmige Abteilung gedrängt und möglichst vollkommen zur Ausfüllung derselben, sowie als Hülle für Samen und Sproß ausgenützt. Diese Manipulation kann bequem und gründlich durchgeführt werden, da ja oberhalb sowohl die Stäbchen als auch die obere Watte allezeit sterilisiert verblieben. Durch den Zwischenraum konnte bequem der Gang des Einpressens beobachtet werden. Sobald die Schicht der unteren Watte nicht gehörig hoch erschien, konnte man sie aus dem oberen Vorrat ergänzen (mit dem Stäbchen wurden Flocken aus dem letzteren losgerissen und an die untere Watte gezwängt). Sobald sämtliche Beobachtungen, die man durch den Zwischenraum vornehmen kann, dafür sprachen, daß der Keimling zuverlässig mit Watte umhüllt sei, wird das innere Röhrchen sowie der Rest des oberen Wattevorrates entfernt. Auf der beigefügten schematischen Abbildung sind einige Stadien dieser Operation skizziert. Zeichnung 1 zeigt die integrierenden

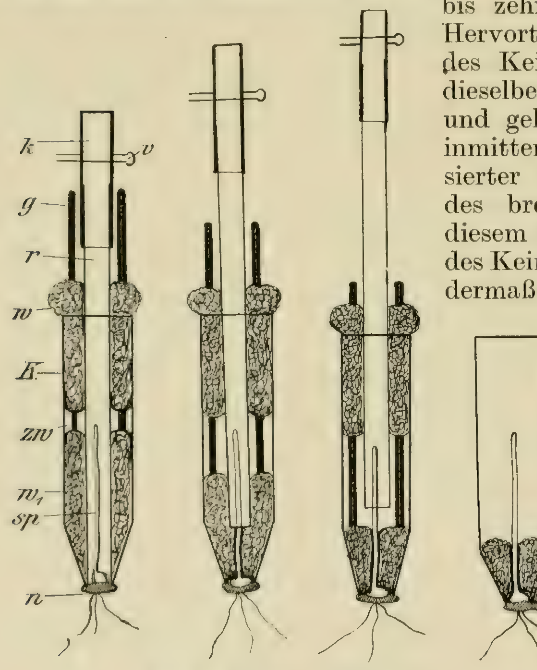


Fig. 84. Schulows Sterilzucht.

Details der Geräte und auch, daß der Keimling durch den Zwischenraum nach Befreiung verlangt. Zeichnung 4 zeigt den völlig befreiten Keimling, während 2 und 3 verschiedene Übergangsstadien darstellend, die Entfernung des innern zylindrischen Röhrchens neben gleichzeitiger allmählicher Verdichtung der unteren Watte veranschaulichen, wobei die Stäbchen zum Einhüllen des Keimlings in Watte benutzt werden. Das Resultat der Sterilität beträgt 75 %.

Eine andere Methode ist für Wasserpflanzen von G. Pollacci ausgearbeitet und beruht auf der relativen Unempfindlichkeit grüner Pflanzen gegenüber H_2O_2, welches niedere Organismen stark schädigt. Bevor die Beschreibung der einfachen Apparatur vorgenommen wird, sei darauf hingewiesen, daß sich auch gasförmiger Formaldehyd zur Sterilisierung grüner Pflanzen eignen dürfte, da derselbe bei intensiv bakteriziden Eigenschaften von höheren Pflanzen in Konzentrationen von 0,1 Volumprozenten vertragen wird [1]), wofern absolut reiner Formaldehyd angewendet und für sorgfältigen Abschluß der Kulturerde oder Nährlösung vor dem Eindringen des Gases gesorgt wird. Freilich erscheinen die enzymatischen Leistungen so behandelter Pflanzen nicht ungeändert), die Pflanzen also, obwohl nicht geschädigt, doch nicht mehr normal.

Bach und Chodat machten die Beobachtung [2]), daß entgegen der Anschauung von O. Loew, reines Wasserstoffsuperoxyd, wenn es nicht allzustark konzentriert ist, für das lebende Protoplasma kein Gift vorstellt. Setzt man eine höchstens 1prozentige H_2O_2-Lösung einer Salpeterlösung zu, so erzeugt diese normale Plasmolyse. Dagegen übt Wasserstoffsuperoxyd auf Mikroorganismen noch in großer Verdünnung sehr schnell vernichtende Wirkung aus. Untersucht wurden Wasserpflanzen wie Lemna, Salvinia, Azolla, Nymphaea usw., die zum Teil sehr zarte Wurzeln besitzen. Die Pflanzen können für kurze Zeit ganz untergetaucht und dann mit sterilisiertem Wasser nachgewaschen werden. Bei den Versuchen wurde je eine der gebadeten Pflanzen in eine entsprechende Nährlösung, die andere in sterile Gelatine gebracht, wobei einerseits die vollkommene Sterilisation, andrerseits die voll erhaltene Lebensfähigkeit der Pflanze sich zeigte. Der Grad der Konzentration des zu verwendenden H_2O_2 und die Dauer der Sterilisation hängen natürlich von der Art der Pflanze ab. Der verwendete einfache Apparat ist folgender (Fig. 85):

Ein Gefäß *Fl* von sterilisiertem Glas mit einigen Litern Fassungsraum mit einem oberen und einem unteren Tubus ist mit sterilisiertem Wasser gefüllt, mit dem die erste Waschung vorgenommen wird. Der obere Tubus trägt sterilisierte Watte, der andere vermittelt die Verbindung mit einem andern Gefäß w_1 durch eine bis auf den Boden von w_1 reichende Röhre, die den Zulauf besorgt, während der Ablauf in die nächsten Gefäße w_2 und w_3 auf dieselbe Weise geschieht. Jedes

[1]) V. Grafe und L. v. Portheim, Orientierende Untersuchungen über die Einwirkung von gasförmigem Formaldehyd auf die grüne Pflanze. Öst. bot. Zeitschr. 1909. — V. Grafe und Emmy Vieser, Untersuchungen über das Verhalten grüner Pflanzen zu gasförmigem Formaldehyd I. Ber. d. d. bot. Ges. **27**, 431 (1909). — V. Grafe, Untersuchungen über das Verhalten usw. II. Ebd. **29**, 19 (1911). — V. Grafe, Die biochemische Seite der Kohlensäureassimilation durch die grüne Pflanze. Biochem. Zeitschr. **32**, 114 (1911).

[2]) Bach und Chodat, Ber. d. deutschen chem. Ges. **35**, 1275, 2466 (1902).

dieser Gefäße trägt in einer dritten Bohrung ein Glasrohr, das auch wieder sterilisierte Watte trägt, so daß die Luft, ohne Keime mitzuführen, die Gefäße passieren kann. In das zweite Gefäß — die Gefäße sind, wie man sieht, stufenförmig angeordnet — kommt das zu sterilisierende Pflanzenmaterial. Man läßt nun den Strom des sterilisierten Wassers durch Öffnen des Hahnes aus dem großen Gefäß durch die übrigen laufen, die Pflanzen können so hinlänglich gewaschen werden, ohne mit der äußeren Luft in Berührung zu kommen. Unter Benutzung eines genügend weiten Abflußrohres kann man die kleinen Pflanzen, welche gut gewaschen worden sind, direkt aus w_1, ohne dieses Gefäß zu öffnen, herausspülen. Das Material kann so nach w_2 gebracht werden, welches Gefäß zum eigentlichen Waschen mit H_2O_2 bestimmt ist. Vorher wird durch den Schlauch am unteren Tubus von w_2 das Wasser herausgelassen und statt dessen durch ein mit Hahn versehenes Trichterrohr von oben die Wasserstoffsuperoxydlösung zufließen gelassen, mit dem Pflanzenmaterial eine bestimmte Zeit in Kontakt gelassen, um dann, ebenso wie früher das Wasser, durch den unteren Tubus entfernt zu werden. Nun wird wieder aus *Fl* mit reichlichen Mengen sterilisierten Wassers nachgewaschen. Aus *Fl* gelangen die Pflanzen auf dieselbe Weise wie früher nach w_2, wo das Wasser abgelassen und wie früher das Wasserstoffsuperoxyd nach w_3, so hier die Nährlösung eingefüllt wird. w_3 wird dann steril abgelöst und dient direkt als Kulturgefäß. Salvinia verträgt eine 45 Minuten dauernde Behandlung mit 3prozentigem H_2O_2 und noch 30 Minuten mit 3,6prozentigem, Lemna major 45 Minuten mit 1,8prozentigem und 5 Minuten mit 3,3prozentigem, aber nicht mehr mit 3,6prozentigem H_2O_2.

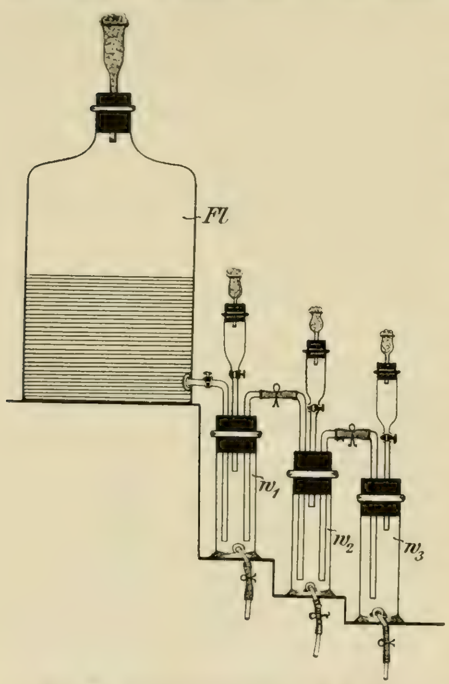


Fig. 85. Sterilisierapparat nach Pollaci.

Die große Widerstandskraft ungequollener Samen gegen trockene Wärme bringt es mit sich, daß man sie, z. B. Erbsen, ohne weiteres im Dampfdrucktopf sterilisieren kann (mit überhitztem Wasserdampf von 120 ° C durch zehn Minuten). Bei seinen Versuchen mit Giften, deren Einwirkung auf die Keimung untersucht wurde, fand Arcichovskij, daß die Resistenz der Samen gegen Entwicklung von Mikroorganismen durch die Gifte herabgesetzt wird, was die Verunreinigung der Samen erleichtert. Man muß in diesem Falle die Samen einzeln in besonderen Gefäßen aseptisch auskeimen lassen. Ein kleines kupfernes Stativ mit 24 Eprouvetten wird für jeden Versuch im Autoklaven sterilisiert. Jedes Stativ besitzt ein Scharnier, welches Auf- und Zuklappen ermöglicht. Am Boden jeder Eprouvette befindet sich eine 2 cm hohe Flocke hygroskopischer Watte, die mit 2 ccm sterilisierten

Wassers angefeuchtet wird. Um das Herauspressen der Watte durch kochendes Wasser zu verhindern, wird in die Eprouvetten ein dünnes Röhrchen gestellt, dessen oberes Ende etwas über die Watte herausragt. Das sterilisierte Stativ mit den Probiergläsern wird in die Saatkamera eingestellt und die nach der Behandlung mit der Giftlösung in fließendem Wasser gewaschenen Samen mit sterilen Pinzetten in die Probiergläser gelegt. Die Keimungen verlaufen völlig aseptisch.

R. Combes (Comptes rendus de l'académie des sciences, T. 154, 891, 1912) gibt folgende Methode an, die der von Schulow ähnelt: Die Samen werden in 1 $^0/_{00}$igem Sublimat gewaschen und nach dem Abspülen mit Wasser in sterilisierten Eprouvetten auf feuchter Watte zum Keimen ausgelegt. Sowie das Keimen begonnen hat, wird je ein Samen in das im folgenden zu beschreibende Gefäß gebracht: Ein Glasgefäß mit abgerundeten Ecken (Fig. 86) besitzt einen seitlichen Tubus *tu* und endigt mit dem ausgebauchten Tubus *r*, der bei e_2 und e_1 eingeschnürt ist. Die eingeschnürte Partie bei e_1 ist von dem übrigen Gefäß durch die Ausbauchung *r* abgetrennt. In den Hals des Tubus bei e_1 wird ein zylindrisches Glasrohr *t* eingeführt, das vorher in einen Wattebausch *co* eingehüllt worden ist, so daß es gerade noch in den Tubus eingedreht werden kann. Die untere Öffnung des in den Tubus eingeführten Glasrohres ist vorher mit einem weitmaschigen Organtin überspannt worden. Auch in die Einschnürung e_2 wird sterilisierte Watte eingeführt. Die obere Öffnung der Glocke *cl*, welche jetzt über den Tubus so gestülpt wird, daß sie vermittels der bei e_2 eingeführten Watte eng aufsitzt, wird ebenso wie die obere Öffnung des seitlichen Tubus mit sterilisierter Watte versehen, wie das bei den Kultureprouvetten der bakteriologischen Technik üblich ist. Darüber wird dann noch das Glas *ca* gestülpt. Jeder solche kleine Apparat wird nach seiner Montierung eine halbe Stunde bei 150° C sterilisiert. Das vorher sterilisierte flüssige Kulturmedium der höheren Pflanze wird nun steril beim seitlichen Tubus so eingefüllt, daß der die untere Öffnung von *t* verschließende Organtin benetzt ist. Nachdem man sich durch mehrtägiges Stehen des adjustierten Apparates und eventuell entnommene Probe zur bakteriellen Prüfung überzeugt hat, daß alles steril ist, wird der angekeimte Samen *g* aseptisch auf die Organtinunterlage des Apparates gebracht, wo nun die weitere Entwicklung erfolgt. Die junge Wurzel dringt in die sterile Nährlösung, der Sproß in den Luftraum von *t*. Nachdem der Sproß hinreichende Länge erreicht hat, wird die Röhre *t* mit einer abgeflammten Pinzette langsam herausgezogen und in dem Maße, als sie sich heraushebt, sinkt die umgebende Watte tiefer und umgibt schließlich von selbst den sich erhebenden Sproß. Man muß nur rings um denselben die Watte mit der abgeflammten Pinzette zurechtdrücken und ausbreiten. Auf diese Weise kommt die Wurzel im sterilen Nährmedium, der oberirdische Teil der Pflanze in freier Luft zur Entwicklung.

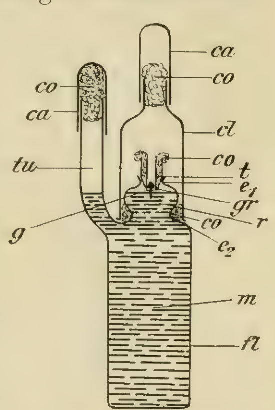


Fig. 86. Steriler Apparat nach R. Combes.

Die bisher üblichen Methoden der sterilen Aufzucht höherer Pflanzen geben doch immerhin, wie Schulow bemerkt, nicht immer die ge-

wünschte absolute Sterilität. Diesem Übelstande sucht der einfache, von J. Gicklhorn konstruierte Apparat abzuhelfen, welcher den Prozentsatz der sterilen Pflanzen bedeutend erhöht und ebenfalls von dem Prinzip ausgeht, daß peinlichste Sorgfalt in erster Linie auf den vollkommen sterilen Abschluß des Wurzelsystems zu legen ist, während die oberirdischen Teile sich von frühester Jugend auf in einem sterilen Luftraum frei erheben, dessen steriler Abfluß aber, wenn die oberirdischen Organe erstarkt sind, nicht mehr strikte eingehalten werden muß. Das Verfahren ist dem einfachen Impfverfahren der Bakteriologie nachgebildet. Als Kulturgefäß wird eine ungefähr 5000 ccm fassende weithalsige Flasche *G* benutzt (Fig. 87), über die einmal im Kreise herum eine ungefähr vier Finger breite Lage Watte *W* gewickelt wird. Die Watte ragt über die Mündung der Flasche noch etwa zwei Finger breit hinüber. Der Wattestreifen wird an seinem herausragenden Ende mit den Fingern erfaßt und leicht in die Mündung der Flasche deren Rande angedrückt. Über diese Watte wird ein mäßig feuchtes Pergamentpapier *P* locker darüber gespannt und mit einem in die Mündung der Flasche passenden Glas- oder Holz-

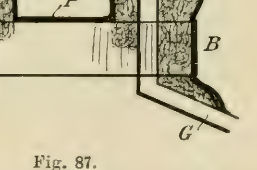


Fig. 87.

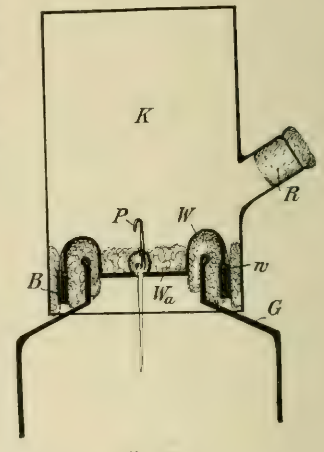


Fig. 88.

Apparate zur sterilen Aufzucht von J. Gicklhorn.

stopfen *P* ungefähr zwei Finger tief hineingedrückt. Der überragende Teil des Papiers wird über die Watte geglättet und mit einem Kautschukband *w* (Fig. 88) locker festgehalten. Über das so montierte Kultur gefäß wird ein passender Zylinder *K* gesetzt, für dessen Einpassung auf die beginnende Wölbung *G* der Flasche noch ein einfacher Wattestreifen zwischen Zylinder und Flaschenhals gewunden wird, welcher Wattestreifen den Zylinder festklemmt. Bevor man das Festklemmen vornimmt, kommt in die durch den Stöpsel bewirkte Vertiefung ein lockerer, die Vertiefung ganz ausfüllender Wattepfropf *Wa*. Watte und Pergamentpapier werden mittels eines Trichters durchbohrt und durch den Trichter die (etwa organische) Kulturflüssigkeit eingefüllt. Dann wird der Aufsatzzylinder, dessen oberes Ende mit einem Glasboden verschlossen ist (man verwendet am besten ein umgekehrtes, nicht gerandeltes Becherglas) und der ein seitliches, schief angesetztes Zuführrohr *R* trägt, mittels des Watteringes fest aufgesetzt und der ganze so adjustierte Apparat in den Sterilisator gestellt.

Ein birnenförmiges (Fig. 89) Gefäß *Ra* mit breiter Mündung K_1, an dessen Verschmälerung unten ein dickwandiger, mit Klemmschraube versehener Gummischlauch angebracht ist, wird oben mit einem passenden.

doppelt durchbohrten Pfropfen verschlossen. Die eine Bohrung trägt ein engeres, mit sterilisierter Watte verschlossenes, die andere ein so weites Glasrohr, daß z. B. Erbsen bequem durchfallen können. Dieses breite Glasrohr trägt einen Kautschukschlauch S, der unmittelbar über dem Rohrende einen Quetschhahn H_1 angesetzt hat. Das andere Ende des etwa ½ m langen Schlauches ist über ein erweitertes Glasrohr gezogen (unmittelbar vorher ist wieder ein Quetschhahn H_2 vorgesehen), dessen schmälerer Teil in der Bohrung eines Stöpsels sitzt, mit dem ein wassergefüllter Erlenmeyerkolben E verschlossen ist. Die ganze Apparatur wird heiß sterilisiert, der Stöpsel des birnenförmigen Behälters danach einen Moment abgehoben und die Samen Sa eingeschüttet und mit 1 $^0/_{00}$iger Bromlösung bedeckt, der Stöpsel wieder eingesetzt und nun wiederholt geschüttelt, so daß Samen und das breite Rohr samt dem Stück Kautschukschlauch bis zum Quetschhahn gründlich desinfiziert werden; das Bromwasser wird nun unten aus der Birne abgelassen und aus dem Kolben unter entsprechendem Öffnen der Quetschhähne das sterilisierte Wasser in die Birne eingeführt und die Samen zwei- bis dreimal damit geschüttelt, so daß das Bromwasser vollständig ausgewaschen wird. Zuletzt wird der ganze Rest des Wassers aus dem Kolben in die Birne eingelassen und die Samen darin zur Quellung gebracht. Darauf wird die Birne umgekehrt und unter Öffnen des der Birne benachbarten und Verschluß des dem Erlenmeyerkolben benachbarten Quetschhahnes die Samen durch sanftes Schütteln in den weiten Kautschukschlauch gebracht, so daß sie nun in diesem sterilisierten Behälter wie in einem langen Beutel ruhen. Die ganze Apperatur ist an den Stativen St_1 und St_2 fixiert. Eine mit Filtrierpapier ausgekleidete Petrischale wird in der gewöhnlichen Weise sterilisiert, auf einen Tisch gestellt und, nachdem die nun nicht mehr sterilen Enden des Gummischlauches jenseits der Quetschhähne in heißes Wasser gesteckt und so wieder steril geworden sind, die Samen in die sterilisierte Petrischale ausgeschüttet, wo sie also steril ankeimen. Dann wird der Keimapparat und die Petrischale nebeneinander auf den Tisch zur Seite einer Flamme gestellt, der Samen mittels einer langarmigen, abgeflammten Pinzette mit breiten Schuhen gefaßt, zwischen welchen der Samen bequem ruht. Inzwischen ist, wie beim bakteriologischen Arbeiten, der Wattebausch aus dem seitlichen Ansatzrohr des Zylinders

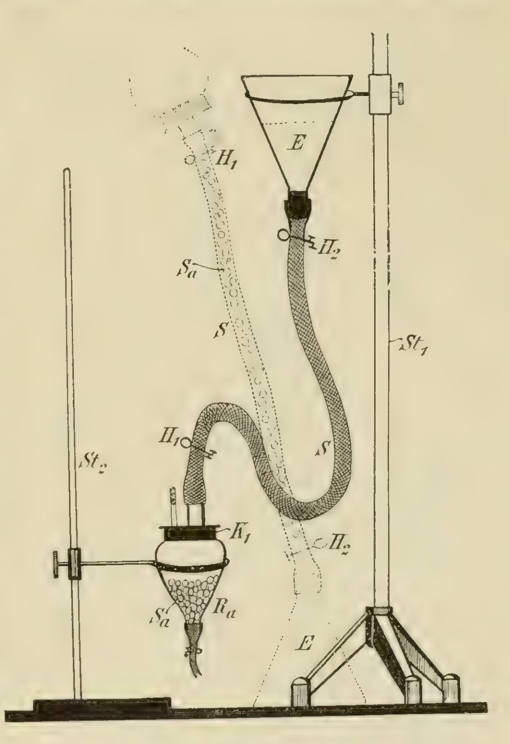


Fig. 89.
Apparat zur sterilen Aufzucht von J. Gicklhorn.

herausgezogen worden, der Samen wird mit der Pinzette eingeführt und in den Wattebausch der Flaschenmündung eingedrückt, so daß er genau in das vorher für das Durchführen des Trichters in die Watte und das Pergamentpapier gebohrte Loch zu liegen kommt. Die Watte des Ansatzrohres wird abgeflammt und wieder hineingesteckt. Der Samen ist also völlig steril hineingebracht, die Möglichkeit der Infektion ist nicht größer als beim gewöhnlichen bakteriologischen Arbeiten. Nachdem der Samen Wurzel und etwa 2 cm hoch seinen Stengel ausgetrieben hat, wird durch den seitlichen Ansatz eine steril vorrätig gehaltene Mischung von Vaselin, Paraffin und Wachs einfließen gelassen, die nicht härter ist, als daß in ihr das Wachstum der Keimpflanze leicht vor sich gehen kann und beim Einfließen nicht heißer, als daß sie gerade dünnflüssig ist. Die Mischung durchtränkt Watte und Pergament vollkommen, so daß eine spätere Infektion der Nährlösung von oben ausgeschlossen ist. Nachdem die Pflanze noch etwas größer geworden ist, wird der Aufsatzzylinder abgenommen, der Wattering, der ihn abgedichtet hatte, entfernt und der Keimling entwickelt sich im freien Luftraum mit vollkommen steril gehaltenem Wurzelsystem und Nährlösung. Es ist klar, daß nur mit Hilfe derartiger minutiöser Versuchsanstellungen Stoffwechselfragen mit organischer Lösung, Wurzelausscheidungsfragen u. dgl. einwandfrei zu lösen sind.

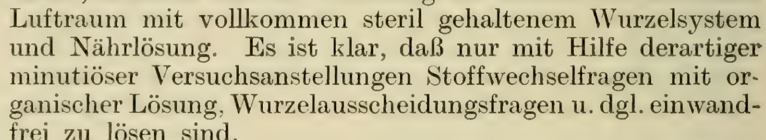


Fig. 90. Sterile Anordnung von W. Schmidt.

W. Schmidt[1]) verwendet in einfacher Weise Gasglühlichtzylinder *b* (Fig. 90), die mit dem einen Ende in Bechergläser *d* gestellt wurden, wo sie mit einem Wattering *c* festgehalten werden. In die Röhre sowohl wie in das Becherglas war zuvor gut ausgeglühter Sand *f* gegossen worden, in beliebiger Höhe, je nach den zu verwendenden Pflanzen und der Weite der Röhren. Auf die Sandschicht, die die Röhre außen *e* im Becherglase umgibt, wird soviel Knopsche Nährlösung gegossen, bis in dem Zylinder die ganze Sandsäule schwach durchfeuchtet ist. Der Zylinder wird oben mit einem Wattebausch *a* verschlossen und nunmehr das ganze im Dampftopf dreimal je 1/2 Stunde sterilisiert. Um nun das Austrocknen zu verhindern, andrerseits die mögliche Infektion bei Lüften der Zylinderbedeckung zu vermeiden, wird die untere Öffnung des Zylinders mit einer Zelloidinschichte *g* verschlossen, durch die die Nährlösung durchdiffundiert, wenn der Zylinder in die Lösung gestellt wird, während die Pilzkeime zurückgehalten werden. Um die Zelloidinplatte in dem Zylinder anzubringen, stellt man diesen zweckmäßig mit dem zu verschließenden Ende auf Quecksilber, gibt zirka 3—4 mm hoch Zelloidin in das Rohr und läßt das Alkoholäthergemisch abdunsten. In bezug auf späteres Sterilisieren ist zu bemerken, daß das fertig montierte Kulturgefäß mit trockenem, ausgeglühtem Sande in den Dampftopf zu bringen ist, nicht schon mit Knopscher Nährlösung wie vorher befeuchtet. Es gelang auf diese Art speziell Rübenpflänzchen vollkommen steril aufzuziehen. Eine andere Methode besteht in der Verwendung von sterilem 2prozentigem Agar zur Anzucht höherer Pflanzen in weitlumigen Reagenzröhren. Der Agar wird gut gekocht und heiß zweimal

[1]) W. Schmidt, Zur Methodik von Infektionsversuchen an höheren Pflanzen. Centralbl. f. Bakt. II, 25, 426 (1910).

durch Filtrierpapier und Watte mittels der Wasserstrahlpumpe filtriert. Das Filtrat wird in weite Glasschalen gegossen und nach dem Erstarren über die zirka 2 cm starre Schichte destilliertes Wasser gegossen und das Ganze sich selbst überlassen. Nach einigen Tagen wird das Wasser, das einen leichten Fäulnisgeruch angenommen hat, abgegossen, durch frisches Wasser ersetzt usf. Nach etwa zwei Wochen wird der Agar neu aufgekocht, mit 20prozentiger Knopscher Nährlösung versetzt und in große Reagenzrohre (20 mm innere Weite) in 3—4 cm hoher Schichte gefüllt. Die Röhren werden dreimal je ½ Stunde im Dampftopf sterilisiert; der Agar muß dann so durchsichtig sein, daß man Druckschrift durch ihn hindurch lesen kann. Ungeschälte Rübensamen keimten allerdings in solchem Substrate schlecht und wuchsen schlecht, geschälte schon etwas besser; daher wurden später junge in Erdkästen im Freien herangezogene Rübenpflänzchen gewissermaßen als Stecklinge verwendet, indem die Wurzeln abgeschnitten und das Hypokotyl mit der Pinzette in die Agarmasse eingeschoben wurde. Die Rübenpflänzchen waren zuvor in stark strömendem Leitungswasser, dann in destilliertem, schließlich in sterilem Wasser gewaschen worden, die Wurzel wurde mit alkoholsterilisiertem Messer entfernt und das Hypokotyl schnell mit steriler Pinzette in das bereitgehaltene Röhrchen eingeführt. Die Pflänzchen trieben in wenigen Tagen kräftige Wurzeln, welche bald die ganze Kuppe des Reagenzrohres durchzogen hatten. Der Blattapparat war üppig grün, Pilze traten selbst nach Wochen nicht auf. Die Gläser standen in großen Reagenzrohrgestellen direkt am Fenster und wurden von der Sonne voll getroffen; etwas mehr dunkel gehaltene Kulturen gingen zugrunde, die Wurzeln wurden schwach oder gar nicht gebildet. Der Blattapparat muß also lebhaft assimilieren können, um die Regeneration der Wurzel zu unterstützen.

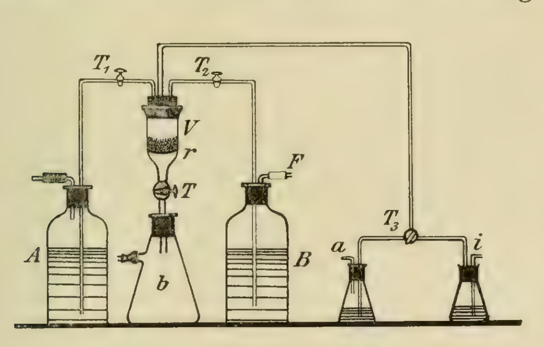


Fig. 91 a.



Fig. 91 b.

Anordnung von Petri zur sterilen Kultur.

Zur sterilen Kultur von aus Samen stammenden Weinreben hat L. Petri einen Apparat konstruiert. Zunächst wurden die Samen

[1] L. Petri, Nodositätenbildung auf den Rebwurzeln durch die Reblaus in sterilisiertem Mittel. Centralbl. f. Bakt. II, 24, 146 (1909).

in einem geeigneten Gefäß mittels Durchleitens eines Stromes von 1prozentiger Sublimatlösung durch 2—3 Minuten desinfiziert, dann mit sterilem Wasser nachgewaschen und dasselbe Wasser zum Anquellen der Samen benutzt. Der Apparat (Fig. 91a und b) besteht aus einem mit dreiröhrigem Kautschukpfropfen und einem Hahn T versehenen Glastrichter. Der zylindrische Teil des Trichters ist unten durch das Sieb r aus Tüll oder Porzellan geschlossen, über welchem die zu sterilisierenden Weinbeerkerne V sich befinden. Der Trichter ist an dem Absaugekolben b durch einen Kautschukstöpsel befestigt, der seitliche Ansatz des Kolbens ist durch sterilisierte Watte verschlossen. Die beiden seitlichen Röhren des oberen Pfropfens des Trichters befinden sich in Verbindung mit den beiden Flaschen A und B, welche die Sublimatlösung, respektive das sterilisierte Wasser enthalten. Die beiden Flaschen sind mit einem zweiten Rohre versehen, damit Luft durch das Filter F ziehen kann. Das mittlere Rohr des Trichterpfropfens ist in Verbindung mit zwei Schwefelsäure enthaltenden Kolben. Ein Dreiweghahn T_3 verbindet abwechselnd die beiden Kolben mit dem Trichter. Wenn man einen Strom Sublimatlösung in den Trichter einlassen will, setzt man das Rohr eines Aspirators an das Rohr a des linken Kolbens, indem man die Hähne T_1 und T geschlossen hält und T_2 und T_3 öffnet. Die Wirkung des Aspirators soll aufhören, sobald der Trichter ganz voll ist. Dann schließt man den Hahn T_2 und öffnet T und T_3 (des rechten Kolbens). In dieser Weise wird das Sublimat abgezogen; dann muß man, um mit Wasser nachzuwaschen, den Hahn T schließen und den Hahn T_1 und T_3 öffnen (beim linken Kolben). Dann läßt man den Aspirator wirken. Das Wasser wird 4—5mal gewechselt und die Samen dann zirka neun Tage bei einer Temperatur von 20—22 ⁰ C unter Wasser gehalten. Für manche Samen ist zweimaliges Desinfizieren notwendig, weil sich sonst doch ein Pilzmyzel bilden kann, das den Embryo zerstört. Dagegen werden die erwachsenden jungen Pflänzchen nicht mehr angegriffen. Die Keimfähigkeit leidet unter der Desinfektion gar nicht, selbst wenn sie vier Minuten gedauert haben sollte. Die Glasröhren, in welche die desinfizierten Samen eingesät werden, zeigt Fig. 91b. Die Bohrung, welche die beiden weitesten Teile des Rohres verbindet, zeigt, entsprechend der Verengerung, einen Durchmesser von höchstens 3 mm, so daß es unmöglich ist, den Samen durchzuziehen. Der Samen wird vielmehr, wenn er ausgesät werden soll, in den oberen Teil a des Rohres hineingeworfen, indem man die Watte c ein wenig hochhebt. In den unteren Teil b wird ein wenig mit Bruchstücken von Granit vermengter Sand gelegt, damit die untere Schicht sehr porös wird und die Ausbreitung der Wurzeln ermöglicht. Ein wenig Glaswolle lv verhindert das Durchfallen von Erde durch das den Pfropfen m durchziehende Rohr, das zum Abgießen des Wassers dient; dieses Rohr wird durch das Glasstäbchen n mit dem dazugehörigen Kautschuktubus geschlossen. Der mit Erde gefüllte Teil b ist mit einem kurzen seitlichen Rohre versehen, welches sich in Verbindung mit dem durch den Stopfen o geschlossenen Glasrohre e befindet. Die Erde sowie die Granitbruchstücke in dem Glasrohr, mit Ausnahme der Teile aus Kautschuk, werden im Trockenschrank bei 130 ⁰ C eine Stunde lang sterilisiert. Die Abgießungsröhre mit dem dazugehörigen Deckel und die Röhrchen e mit dem Kautschuktubus werden im Dampftopf sterilisiert. Diese Teile werden dann dem

Apparat angefügt, die Erde mit einem Strom sterilisierten Wassers begossen, welcher durch das Rohr *e* ziehend, durch das untere Rohr schließlich abläuft. Darauf werden die Kulturapparate von neuem sterilisiert, indem man sie durch 20 Minuten feuchter Wärme von 105 ⁰ C aussetzt. In den oberen Teil des Apparates *a* wird dann ein Kern getan und durch ein geeignetes Reagenzglas sofort ein wenig feinen sterilisierten Sandes *s* darauf gegossen, sowie eine ungefähr 3—4 mm dicke Schicht von Specksteinpulver *r*. Indem der Sand die nasse Erde des Teiles *b* des Apparates berührt, feuchtet er sich durch Kapillarität nach und nach an, während die Specksteinpulverschichte trocken bleibt; sie läßt daher den zur Keimung des Samens notwendigen Sauerstoff durch. Gleichzeitig dient diese Schichte als ein Filter für die Luft, gleichsam wie ein Wattepfropfen, indem sie das Durchdringen der in der Luft vorhandenen Keime verhindert. In den Entwicklungsapparaten kann man ferner dem Wurzelsystem die nötige Luft zuführen, indem man einen Luftstrom durch das Rohr *e* in das untere ziehen läßt oder indem man dieses letztere einfach offen stehen läßt; dann muß man aber das untere Ende des Apparates in ein langes sterilisiertes Reagenzglas einführen, nachdem das Stäbchen *n* entfernt worden ist.

XVII. Bestimmung der Oberflächenspannung, der Permeabilität und des osmotischen Druckes durch Plasmolyse[1].

Durch eine Reihe neuer Untersuchungen, die sich, von De Vries ausgehend, namentlich an die Namen Czapek, Lepeschkin, Ruhland, van Rysselberghe, Tröndle knüpfen, ist die große Bedeutung der Plasmaoberfläche für den Stoffwechsel der Zelle in das rechte Licht gerückt worden, so daß heute beim Studium der Lebenserscheinungen die Beachtung der physikalisch-chemischen Momente des Zellebens ausschlaggebend werden dürfte.

Von F. Czapek wurde eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen ausgearbeitet, welche in der Feststellung der Grenzkonzentration von Lösungen oberflächenaktiver Stoffe von bekannterOberflächenspannung, z. B. Äthylalkohol, besteht, welche Konzentration eben imstande ist, aus Pflanzen zellen die Exosmose von leicht nachweisbaren Stoffen des Zellinhaltes zu erregen. Der Apparat, welcher hier für die Bestimmung der Oberflächenspannung verschiedener Substanzen zweckmäßig benutzt wird, beruht auf dem Prinzip, nach welchem die Oberflächenspannung durch die Druckhöhe einer Flüssigkeitssäule gemessen werden kann, durch welche eben eine Luftblase durch die zu prüfende Lösung hindurchgepreßt werden kann. Czapek nennt seinen Apparat (Fig. 92), der im wesentlichen ein Wassermanometer ist, dessen kürzerer Schenkel, nochmals U-förmig nach abwärts gebogen, mit einem Kapillarrohre endigt, *Kapillarmanometer*. Seine Kapillarweite beträgt 1 mm ; um durch eine Kapillare von solchen Dimensionen eine Luftblase durchzupressen, ist ein Druck notwendig, der einer Wassersäule von etwas über 50 mm

[1]) Unter Zugrundelegung meines gleichnamigen Beitrages im VI. Bande der „Biochemischen Arbeitsmethoden“; ebenso der vorhergehende Abschnitt.

entspricht. Die Gleichmäßigkeit der Kapillarmündung ist für den Erfolg der Bestimmung sehr maßgebend; als Kapillare wird eine Thermometerkapillare gewählt, die genau halbkugelig abgeschliffen ist und deren Mündung Hochpolitur erhalten hat, die Lupe muß möglichste Dünne und Glätte der Mündung zeigen; die Länge ist hier 2 mm. Von der abgelesenen Druckhöhe muß man die Höhe der Flüssigkeitssäule von der Mündung der eingetauchten Kapillare k bis zum äußeren Flüssigkeitsniveau abziehen. Zu diesem Zweck ist auf der Wand des die Flüssigkeit enthaltenden Gläschens E eine Millimeterteilung eingeritzt, das Gläschen wird unter Beobachtung mit einer starken Lupe in den federnden Haltern solange verschoben, bis die gewünschte Einstellung genau erreicht ist. Zum Einfüllen des Wassers in das Wassermanometer wird ein kleines Gläschen mit genau gearbeitetem Glashahn benutzt, welches über dem offenen Manometerschenkel in Klammern angebracht ist. So kann das Wasser mit gut regulierbarer Tropfgeschwindigkeit zufließen gelassen werden; das Zufließen soll nicht schneller erfolgen, als man die Steighöhe der Flüssigkeit im Manometer M an der Porzellan-Millimeterskala bis auf halbe Millimeter ablesen kann. Die Tropfen müssen an der Wand des Rohres herabfließen, weil eine Erschütterung durch freies Herabfallen ein frühzeitiges Losreißen der Luftblase an der Mündung der Kapillare bewirkte. Die Luft wird also langsam aus dem kürzeren Manometerschenkel und der Kapillare verdrängt, die Luftblase wölbt sich an der Kapillarmündung, um bei einem bestimmten Überdruck loszureißen, worauf das Wasser im kürzeren Manometerschenkel eine Strecke weit emporsteigt. Der Stand des Niveaus im kürzeren Schenkel wird abgelesen, dann wartet man, indem man das Wasser im offenen Schenkel langsam nachfließen läßt, bis ein neuerliches Abreißen einer Blase erfolgt, die Differenz wird notiert und gleich eine nächste Bestimmung angeschlossen, wobei die Ablesungen um nicht mehr als 1/2 Millimeter differieren dürfen, aus mehreren Bestimmungen schließlich das Mittel genommen.

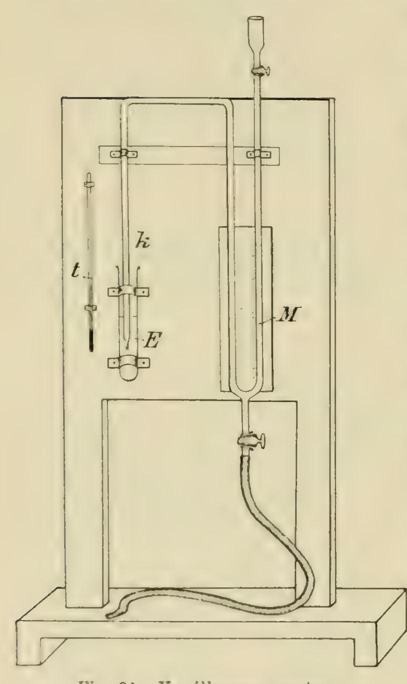


Fig. 92. Kapillarmanometer von F. Czapek.

Am Schlusse der Beobachtung wird zunächst das Gläschen mit der zu untersuchenden Flüssigkeit so weit gesenkt, daß die Kapillare nicht mehr eintaucht. Dann wird der in der Biegung des Manometers angebrachte Hahn geöffnet, worauf das Wasser aus dem Manometer abfließt. Nun befestigt man an dem Glasrohre des Hahnes einen Kautschukschlauch, schließt den offenen Manometerschenkel mit dem Finger und bläst den in der Kapillare festgehaltenen Flüssigkeitsrest heraus. Nun muß die Kapillare sofort zunächst mit destilliertem Wasser, dann mit heißer Chromsäuremischung sorgfältig wiederholte

Male ausgespült werden. Die Waschflüssigkeit wird durch Ansaugen in die Kapillare gebracht. Schließlich wird mit vollkommen fettfreiem Wasser nachgewaschen, worauf sofort eine neue Bestimmung angeschlossen werden kann. Das graduierte, etwa 10 ccm fassende Gläschen wird ebenfalls sorgfältigst gereinigt und dann die zu untersuchende Flüssigkeit hineingefüllt, von der 2—3 ccm im Notfalle genügen. Durch Ansaugen der Untersuchungsflüssigkeit und wieder Zurückdrücken in das Gläschen wird der Fehler vermindert, der gegeben ist, wenn die Kapillare noch feucht geblieben war. Hat man etwa verschiedene Konzentrationen einer und derselben Flüssigkeit zu untersuchen, so genügt das Ausspülen mit Wasser und das genannte An- und Absaugen der neuen Quantität. Das Wasser für die Manometerfüllung muß gleichfalls staub- und fettfrei sein, gewöhnliches destilliertes Wasser muß jedenfalls nochmals destilliert werden. Sehr bedeutend ist der Einfluß der Temperatur; am Stative des Apparates ist deswegen möglichst nahe der zu untersuchenden Probe ein Thermometer t angebracht, die Temperatur zu Beginn und am Ende des Versuches wird abgelesen, die Resultate werden unter Zugrundelegung der Gleichung $\sigma_\tau = \sigma_0 (1 + \gamma t)$ umgerechnet, wobei für $\gamma = 0{,}002$ angenommen wird, was dem Wasser und den stark verdünnten organischen Lösungen, die hier in Betracht kommen, annähernd gleich entspricht. Die Resultate werden ferner auf Wasser $(\sigma) = 1{,}00$ berechnet, welches den Vorteil einer sehr hohen Oberflächenspannung besitzt, so daß die Differenzen zwischen den untersuchten Werten entsprechend groß ausfallen, wogegen freilich der Nachteil steht, daß minimale Fettspuren die Oberflächenspannungswerte sehr beträchtlich ändern.

Die zahlreichen, von Czapek durchgeführten Bestimmungen des Wasserwertes ergaben für das benutzte Kapillarmanometer die besten Resultate bei einer Niveaudifferenz von 51,5 mm. Die Fehlergrenze der vorgenommenen Bestimmungen liegt bei 1 %, die Genauigkeit ist also bemerkenswert groß. Czapek hatte schon früher gefunden, daß die Gerbstoffexosmose aus den subepidermalen Blattzellen von Echeveria unter der Einwirkung verschiedener Alkohole bei Konzentrationen beginnt, welche dieselbe Oberflächenspannung haben. Solche Lösungen werden äquikapillar genannt. Die Untersuchungsobjekte sind die gerbstoffreichen, unter der Oberhaut liegenden Blattzellen verschiedener Echeveriaarten. Mit Ammoniak, Koffein, Antipyrin, Pyridin, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, aliphatischen Aminen usw. sind hier Gerbstoffniederschläge zu erhalten. Befindet sich in der Pflanzenzelle der normale Gerbstoffgehalt (bei absterbenden oder getöteten Zellen diffundiert eine größere Menge des Gerbstoffes durch die veränderte Plasmamembran heraus, so daß in diesem Falle keine deutlichen Niederschläge zu erhalten sind), so treten mit Koffein ganz charakteristische, zu Ballen vereinigte Niederschlagstropfen, die Aggregationen auf; durch Zusammenfließen solcher Flüssigkeitstropfen entstehen eigenartige, schaumige Myelinformen. Mit Tannin treten die Fällungen um so leichter ein, je konzentrierter die Gerbstofflösung ist, und werden mit abnehmender Konzentration immer kleinertropfig, bis sie schließlich nur mehr als weiße (im auffallenden Licht) oder braune (im durchfallenden Licht) Trübung zu erkennen sind.

Von den verwendeten Echeveriablättern (besonders geeignet ist die dickblätterige Echeveria Scheideckerii) trennt man mit mehreren

großen Schnitten von der Unterseite des Blattes mit dem Rasiermesser die Epidermis mit den anhaftenden Lagen von Mesophyll ab und dreht dann die Schnitte um, so daß die Mesophyllzellen nach oben zu liegen kommen. Außer den Crassulaceen sind aber zur Untersuchung der Oberflächenspannung der Plasmahaut auch geeignet: Rosa, Oxalis, Paeonia (Blumenblätter), Fragaria (Blattepidermis), Pelargonium zonale (Haare und Epidermis), Primula sinensis (Blattepidermis), Taraxacum officinale (Wurzeln) usw. Bei Saxifraga sarmentosa, Tentakeln von Drosera, Epidermis von Acer bietet außer dem Gerbstoff auch noch der Anthokyanfarbstoff Vorteile der Beobachtung, der die Gerbstoffballen tiefrot färbt und so leicht unterscheidbar macht. Aber nicht nur Gerbstoffexosmose, sondern auch Exosmose von gelösten Zellsaftpigmenten kann zur Beurteilung der Oberflächenspannung der Plasmahaut herangezogen werden, wobei man schon, wie bei der roten Rübe, in der Färbung des umgebenden verdünnten Alkohols ein Kriterium der eintretenden Exosmose besitzt, oder man beobachtet mikroskopisch den Zeitpunkt der Zellenentfärbung. Solche anthokyanführende Schnitte dürfen nicht allzulange in verdünntem Alkohol liegen, weil das zu sekundären Störungen Veranlassung geben kann; Schnitte aus roter Rübe werden in fließendem Wasser sorgfältig ausgewaschen und der Versuch der Abhängigkeit der Exosmose von der Oberflächenspannung wässeriger Alkohollösungen etwa zwölf Stunden nach der Aufstellung vorgeführt.

Schnitte von Echeveriablättern läßt man in wohlverschlossenen Glasfläschchen in zirka 50 ccm der Lösung an lichtgeschütztem Orte mehrere Stunden stehen, bevor man die Bestimmung des Exosmosegrenzwertes vornimmt. Soll auf Koffeinreaktion z. B. bei Spirogyra geprüft werden, so können die Schnitte aus dem Alkohol nach kurzem Auswaschen in destilliertem Wasser in die $\frac{m}{100}$ Lösung (2,12 auf einen Liter) des Koffeins gebracht werden, und die Prüfung wird nach mindestens einstündigem Verweilen in dieser Lösung vorgenommen. Am genauesten arbeitet man, soweit Alkohole in Betracht kommen, mit den beiden Propylalkoholen, welche von Prozent zu Prozent der Konzentration deutliche Tensionsdifferenzen aufweisen. Der kritische Tensionswert der Alkohole schwankt für die von Czapek untersuchten Pflanzenzellen zwischen 0,68 und 0,69 der Oberflächenspannung des Wassers.

Bei Verwendung von wässerigen Ätherlösungen, wie überhaupt bei Flüssigkeiten niederen Siedepunktes ergibt sich in den Sommermonaten bei der Bestimmung der Oberflächenspannung die Schwierigkeit, daß infolge des großen Dampfdruckes eine Verzögerung des Durchpressens der Luftblase durch die Kapillare eintritt, so daß die Druckwerte zu hoch ausfallen. Durch leise Erschütterung des Manometers, wodurch die Luftblase zum Austreten gebracht wird, vermeidet man diese Fehlerquelle.

Nach den Untersuchungen von Czapek beginnen alle wasserlöslichen und oberflächenaktiven Stoffe auf die Exosmose von Inhaltstoffen lebender Pflanzenzellen in jenen Konzentrationen zu wirken, welche dem Tensionswerte 0,685, bezogen auf die Oberflächenspannung des Wassers, entspricht. Nach dem Gibbsschen Theorem finden sich diejenigen Stoffe, welche die Oberflächenspannung am meisten erniedrigen, am reichlichsten in der äußersten Plasmaschichte. Wenn

— dies ein Resultat der Czapekschen Versuche — unabhängig von der chemischen Natur der betreffenden oberflächenaktiven Substanz jedesmal bei einer bestimmten Oberflächenspannung die abnorme Durchlässigkeit der Plasmahaut auftritt, so muß die eingedrungene Flüssigkeit die oberflächenaktiven Stoffe der Plasmamembran verdrängt haben, d. h. die eingedrungene Substanz muß selbst stärker oberflächenaktiv sein als zum Bestandteile der Plasmahaut. Auf diese Weise kann man aus der kritischen Tension der betreffenden oberflächenaktiven Substanz, welche gerade eine Störung des diosmotischen Verhaltens der Plasmamembran hervorruft, auf die Oberflächenspannung der Plasmahaut schließen, ganz ebenso wie der Turgordruck der lebenden Zelle durch die Konzentration der Salzlösungen bestimmt wird, welche auf diesen Turgordruck einwirken. Auch der Turgordruck ist ebenso wie die Oberflächenspannung von der chemischen Natur der betreffenden Stoffe weitgehend unabhängig. Die Oberflächentension der Plasmahaut muß also nach den ausgeführten Untersuchungen sehr nahe dem Werte 0,685 der Grenzspannung des Wassers gegen Luft oder bei 52,37 Dynen liegen. Zur Bestimmung der Oberflächenspannung ist zweckmäßig eine Flüssigkeit zu wählen, welche wie der leicht rein erhältliche Normalpropylalkohol deutliche Differenzen der Oberflächenspannung bei Konzentrationsintervallen von 1 % deutlich zeigt, ohne daß kleine Fehler in der Genauigkeit der hergestellten Konzentrationen allzusehr ins Gewicht fielen. Besonders günstige Resultate liefert auch das Äthylurethan. Die Oberflächentension des Plasmas ist ein viel konstanterer Wert als der osmotische Druck des Zellinnern, welcher sich durch erhebliche Änderung den geänderten Außenverhältnissen anzupassen imstande ist, während die plasmatische Oberflächenspannung sich vielmehr unter verschiedenen anderen Bedingungen ziemlich auf gleicher Höhe hält.

Die plasmolytische Methode von W. W. Lepeschkin[1]): Es seien zunächst die hier in Betracht kommenden Termini definiert. Turgor und Turgeszenz nennt man die Erscheinung der Straffheit der Zellen, hervorgerufen durch den inneren Zelldruck. Der gesamte Druck, welcher vom Zellinhalt auf die Membranen der Zelle (Zellwand oder Plasmamembranen) ausgeübt wird, ist als Turgordruck zu bezeichnen und wird in Atmosphären (1033 g auf 1 qcm) ausgedrückt. Der Turgordruck ist wenigstens aus vier Kräften zusammengesetzt, aus dem osmotischen Druck, dem Zentraldruck (entstehend aus der Kohäsion der Moleküle des zähflüssigen Plasmas), dem Quellungsdruck des Plasmas und dem osmotischen Druck der im Plasma gelösten Stoffe. Die beiden letzteren üben aber keinen Einfluß auf den Turgordruck vakuolisierter Zellen aus, weil sie gegen Zellwand und gegen Vakuole mit gleicher Kraft einwirken. Der Turgordruck der Zelle ist demnach $P = p_i - p_a - p_c$, wobei p_i = osmotischer Druck des Zellsaftes, p_a = Druck der die Zellhaut durchtränkenden gelösten Stoffe, p_c = Zentraldruck irgendeiner Vakuole bedeutet. Für die direkte

[1]) W. W. Lepeschkin, Über den Turgordruck der vakuolisierten Zellen. Ber. d. deutschen bot. Ges. 26 a, 198 (1908); ders., Über die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe, ebenda 27, 129 (1909).

Bestimmung des Turgordruckes gibt es bisher keine genaue Methode, man muß ihn also aus den Komponenten berechnen. Der osmotische Druck der das Plasma umgebenden Flüssigkeit und auch der des Zellsaftes wird durch die Permeabilität der Plasmamembran für gelöste Stoffe beeinflußt. Nun ist die Permeabilität des Plasmas gerade für Salpeter, dessen plasmolysierende Wirkung am häufigsten für die Bestimmung des Turgordruckes herangezogen wird, ziemlich groß, daher mußten die erhaltenen Werte des osmotischen Druckes immer mit Berücksichtigung dieser Permeabilität korrigiert werden. Wenn, wie das in der Natur meistens der Fall ist, die im Zellsatz gelösten Stoffe die Plasmamembran nicht so leicht durchdringen wie Salpeter, so müßte sich der tatsächliche osmotische Druck des Zellsaftes bei entsprechender Permeabilitätsänderung gerade da v e r m e h r t haben, wo man durch Salpeterplasmolyse seine Verminderung feststellt.

Der osmotische Druck ist eine Funktion der diosmotischen Eigenschaften einer Membran. Wenn wir mit P den beobachteten osmotischen Druck einer Lösung, mit P_0 den osmotischen Druck derselben Lösung, aber in Voraussetzung der Impermeabilität der Membran für gelöste Stoffe, mit μ eine der Permeabilität der Membran proportionale Größe (Permeabilitätsfaktor) bezeichnen, so ist $P = P_0\ (1 - \mu)$. Denken wir uns in einem Zylinder über eine Zuckerlösung reines Wasser geschichtet und von dieser durch eine feste, verschiebbare, absolut semipermeable Wand getrennt und verschieben wir diese um eine sehr kleine Strecke nach unten, so beträgt, wenn das Volumen, um welches der Stempel gesenkt wurde, mit Δ_v bezeichnet wird, der dazu nötige Arbeitsaufwand P_{Δ_v}. Wäre aber die Wand für Zucker permeabel, so wäre der Lösung durch den Stempel nicht reines Wasser, sondern eine Zuckerlösung geringerer Konzentration entzogen worden, weil Zucker nach der Seite des Wassers hin diosmiert. Der Arbeitsaufwand wäre also in diesem Falle $P_{\Delta_v} - p_{\Delta_v}$ worin p den osmotischen Druck dieser entzogenen, verdünnteren Lösung bedeutet. Nun ist aber die Diffusionsgeschwindigkeit proportional der Konzentration der Lösung, von welcher aus die Diffusion stattfindet, also p proportional P, daher der Arbeitsaufwand $P_{\Delta_v}(1 - k)$, wobei k eine Konstante bedeutet, die von der Permeabilität abhängig ist. Die Kraft wird dann ausgedrückt durch $P_0 = P\ (1 - k)$. Der beobachtete osmotische Druck wird also wie früher durch den theoretischen Druck und die Permeabilität der Membran ausgedrückt. Nach der Regel von A r r h e n i u s - V a n t ' H o f f ist der Druck von der Konzentration der Lösung, der elektrolytischen Dissoziation der gelösten Stoffe und der Temperatur abhängig: $P = RGT\,[1 + (n - 1)\alpha]$, worin R die Gaskonstante 0,0821, G die Konzentration in Grammolekülen pro Liter, T die absolute Temperatur, n die Ionenzahl und α der Dissoziationsgrad ist. Demnach ist

$$P = P_0(1 - \mu) = RGT[1 + (n - 1)\alpha]\,(1 - \mu).$$

Die Abhängigkeit des tatsächlichen osmotischen Druckes von der Permeabilität der Membran für gelöste Stoffe muß sich auch am osmotischen Drucke des Zellsaftes und der die Zellwand durchtränkenden Flüssigkeit äußern, weil ja der Plasmaschlauch wohl für alle Stoffe mehr oder weniger permeabel ist.

Wenn man die isotonischen Koeffizienten der mittels Plasmolyse erhaltenen Werte mit den theoretisch berechneten vergleicht, so kann man den Einfluß der Plasmapermeabilität auf den osmotischen Druck am besten bei jenen Stoffen einschätzen, welche, wie Glyzerin, Harnstoff, Salpeter, den Plasmaschlauch am leichtesten passieren. De Vries fand bei Glyzerin für den isotonischen Koeffizienten die Zahl 1,78, während der theoretische, auf Grund der Dampfspannungen von Glyzerin- und Zuckerlösungen berechnete Koeffizient 1,86 ist. De Vries benutzte eine Zuckerlösung von der Konzentration 0,2 Grammoleküle im Liter, welche eine Dampfspannungserniedrigung von 0,0168 mm zeigt. Die molekulare Dampfspannungserniedrigung der Glyzerinlösung mit der gleichen Dampfspannungserniedrigung ist 0,083 mm, daher die isotonische Konzentration der Glyzerinlösung $\frac{0,0168}{0,083} = 0,2024$ Grammmoleküle im Liter. Als isotonischer Koeffizient von Glyzerin ergibt sich, den von Zucker = 1,88 gesetzt, nach der Formel von Arrhenius $\frac{0,2 \cdot 1,88}{0,2024} = 1,86$, also derselbe wie für Zucker. Für Harnstoff ist der gefundene Wert 1,7, der theoretische 1,81, für Salpeter 3, respektive 3,38, immer werden infolge der Permeabilität der Plasmamembran die isotonischen Koeffizienten zu niedrig gefunden. Ist C_1 die Konzentration eines bestimmten plasmolysierenden Stoffes, C_2 die isotonische Konzentration eines andern, P_0 der gemeinsame osmotische Druck beider Lösungen, Impermeabilität des Plasmas vorausgesetzt, so sind die molekularen, osmotischen Drucke der beiden Lösungen:

$$p_{m_1} = \frac{P_0}{C_1}$$

$$p_{m_2} = \frac{P_0}{C_2}.$$

Daher

$$\frac{p_{m_1}}{p_{m_2}} = \frac{C_2}{C_1}.$$

Bezeichnen K_1 und K_2 die theoretischen isotonischen Koeffizienten, so ist: $\frac{C_2}{C_1} = \frac{K_1}{K_2}$, daher

$$\frac{p_{m_1}}{p_{m_2}} = \frac{K_1}{K_2}.$$

Im Falle der Permeabilität der Plasmamembran für die beiden plasmolysierenden Stoffe werden andere isotonische Konzentrationen erhalten. Bezeichnen wir diese durch $C^1{}_1$ und $C^1{}_2$ und den gemeinsamen osmotischen Druck mit P, so ist wieder:

$$p_m{}^1{}_1 = \frac{P}{C^1{}_1}$$

$$p_m{}^1{}_2 = \frac{P}{C^1{}_2}$$

$$\frac{p_m{}^1{}_1}{p_m{}^1{}_2} = \frac{C^1{}_2}{C^1{}_1} \text{ und } \frac{C^1{}_2}{C^1{}_1} = \frac{K^1{}_1}{K^1{}_2},$$ wobei $K^1{}_1$ und K^1 die wirklichen isotonischen Koeffizienten sind

$$\frac{p_m{}^1{}_1}{p_m{}^1{}_2} = \frac{K^1{}_1}{K^1{}_2}.$$

Nach der früher abgeleiteten Formel ist

$$pm^1_1 = pm_1(1 - \mu_1),$$
$$pm^1_2 = pm_2\,(1 - \mu_2).$$

wobei μ_1 und μ_2 die Permeabilitätsfaktoren sind

Daher $$\frac{K^1_1}{K^1_2} = \frac{K_1\ (1 - \mu_1)}{K\ \ (1 - \mu_2)}.$$

Ist einer der plasmolysierenden Stoffe Zucker, der nicht permeiert, so wird $\mu_1 = ø$ und $K_1 = K^1_1 = 1{,}88$. In diesem Falle ist $\mu_2 = 1 - \frac{K^1_2}{K_2}$. Die Größe μ_2 ist der Permeabilität proportional. Unter Permeabilität der Membran für einen bestimmten Stoff verstehen wir mit Lepeschkin das Verhältnis der Anzahl Grammoleküle dieses Stoffes, die in einer Stunde durch die Membran passieren zum Konzentrationsabfall, ausgedrückt in Grammolekülen pro Liter. Wenn $\mu_1 > ø$ ist, so ist $\mu_2 = 1 - \frac{K}{K_1} M$, wobei $M = \frac{1{,}88}{K_0}(1 - \mu_1)$; K_0 ist der isotonische Koeffizient von Zucker, vorausgesetzt, daß die Membran für diesen Stoff permeabel ist, der Permeabilitätsfaktor ist durch μ_1 ausgedrückt. M wäre nahe dem Wert 1, z. B. 0,97, wenn die osmotischen Eigenschaften von Zucker denen des Glyzerins gleich wären. Mit Hilfe dieses Ausdruckes ist eine experimentelle Prüfung der Abhängigkeit des osmotischen Druckes von der Permeabilität des Plasmaschlauches für den plasmolysierenden Stoff möglich.

Die Versuche wurden mit der Alge Spirogyra und Glyzerin angestellt. Die isotonischen Koeffizienten K_1 können für Glyzerin mit einer Genauigkeit von 0,002—0,005 bestimmt werden, der theoretische Koeffizient K läßt sich natürlich ebenso genau berechnen. Ein Spirogyrafaden wird durch ein Glashärchen mittels eines Gemisches von Terpentin und Wachs auf einem großen Deckgläschen befestigt und dasselbe über einen niedrigen (1½ cm hohen und 2½ cm breiten), auf den Objektträger geklebten Glaszylinder umgekippt. Das Deckgläschen wurde mit dem Gemisch von Wachs und Terpentin gedichtet. In den Zylinder, der seitwärts einen mit Pfropfen abgeschlossenen Tubus hatte, wurde zunächst die Zuckerlösung bestimmter Konzentration gebracht, in der die Alge eine Stunde verblieb; nachdem die plasmolysierten Zellen gezeichnet worden waren, wurde die Zuckerlösung durch die isotonische Glyzerinlösung ersetzt, worin die Zellen nach 30 Minuten und nach 2 Stunden wiederum gezeichnet wurden.

V_1 = erstes Volumen
V_2 = zweites ,,
V_3 = drittes ,,
C_1 = Konzentration der Zuckerlösung
C_2 = ,, ,, Glyzerinlösung, demnach C_x,

d. i. die Konzentration der Glyzerinlösung, die der Zuckerkonzentration C_1 isotonisch ist, gleich $C_x = \frac{\left(V_2 - \frac{V_3 - V_2}{4}\right) \cdot C_2}{V_1}$ und der isotonische Koeffizient von Glyzerin $K_1 = \frac{C_1 \cdot 1{,}88}{C_x}$. Die Permeabilität des Glyze-

rins ist folgende: $\frac{(V_3 - V_2) \cdot C_2}{1000}$ Grammolekül ist die Menge Glyzerin, die während zwei Stunden eindringt, dann ist die Permeabilität β, die mittlere Oberfläche des Protoplasten mit $Pq \cdot c$ berechnet,

$$\beta = \frac{V_3 - V_2}{1000\,P\left(1 - \frac{(V_3 - V_2(V_3 + 4\,V_2)}{8\,V_2 \cdot V_3}\right)}.$$

Aus den Versuchen wurde der Proportionalitätskoeffizient h aus der Gleichung $h\,\beta = \mu$ berechnet, wo β die Permeabilität, μ der Permeabilitätsfaktor ist. Die Größe μ kann aus den isotonischen Koeffizienten nach der oben angegebenen Formel bestimmt und aus ihr β berechnet werden. Noch mehr als bei Glyzerin, wo $\mu = 0{,}08$ ist, beeinflußt die Permeabilität den osmotischen Druck der Außenlösung bei Salpeter und Kochsalz; da im Ausdruck $h\,\beta = \mu$ die Größe h bei diesen beiden Stoffen größer ist als bei Glyzerin, lassen sich hier die isotonischen Koeffizienten noch genauer bestimmen.

Zunächst wurde die Länge eines Spirogyrafadens in einer Zuckerlösung von der Konzentration 0,118 Grammoleküle im Liter und darauf in einer solchen von 0,16 Grammoleküle bestimmt (0,16—0,118 = 0,042 Grammoleküle, entsprechend einer Atmosphäre), die Längenzunahme des Fadens pro Stunde bestimmt und die Zuckerlösung durch eine beinahe isotonische Glyzerinlösung von der Konzentration 0,19 Grammmoleküle ersetzt, die Längenzunahme des Fadens infolge Glyzerinendosmose und Wachstum wiederum bestimmt. Darauf die Glyzerinlösung durch eine Zuckerlösung von der Konzentration 0,181 Grammmoleküle ersetzt und die Längenzunahme wieder gemessen. Die Länge l des Fadens vergrößert sich in Glyzerin um 0,052 Teilungen des Objektträgers pro Stunde, nach den mittleren Zahlen der Versuche, das Fadenwachstum macht gleichzeitig 0,018 Teilungen aus, daher die Vergrößerung durch Glyzerinendosmose allein 0,034 Teile pro Stunde. Beim Übertragen des Fadens aus der Zuckerlösung von 0,118 Grammolekülen in die von 0,16 Grammolekülen, also bei einer Verkleinerung des Zellturgordruckes um eine Atmosphäre (s. oben), verkleinert sich derselbe um 0,25 Teilungen. Infolge Glyzerinendosmose vergrößert sich also der Zellturgordruck um $\frac{0{,}034}{0{,}25} = 0{,}14$ Atmosphäre pro Stunde: das entspricht einer Vergrößerung der Glyzerinkonzentration in den Zellen um 0,0063 Grammoleküle pro Stunde. Da das Verbleiben des Fadens im Glyzerin fünf Stunden dauerte, so war das Konzentrationsgefälle bei der ersten Beobachtung $c_1 - c_2 = 0{,}19 - 0{,}006 = 0{,}184$ Grammmoleküle und nach dem Verbleiben des Fadens im Glyzerin $c_1 - c_2 = 0{,}19 - 0{,}0063 \times 5 = 0{,}159$ Grammoleküle. Das Fadenvolumen ist, da der innere Fadendurchmesser $D = 0{,}28$ Teilungen, die Fadenlänge = 47,98 Teilungen beträgt, $\left(\pi \frac{D^2}{4} l\right)$ 2,9544 kubische Teilungen des Objektträgers, d. i. $72\,909 \cdot 10^{-10}$ ccm, da eine Teilung = $^1/_{75}$ ccm ist. In einer Stunde diosmierte also in das Zellinnere $\frac{72\,909 \cdot 10^{-10} \cdot 0{,}0063}{1000} = 45\,932 \cdot 10^{-15}$ Grammoleküle Glyzerin, und da die Fadenoberfläche $(\pi\,Dl)$ 42,205 quadratische Teilungen = $77\,074 \cdot 10^{-7}$ ccm ist, so ist

die Permeabilität $\beta = \frac{p}{c_1 - c_2} = \frac{45\,932 \cdot 10^{-8}}{77\,074 \cdot 0{,}17} = 35 \cdot 10^{-9}$, wobei p die endosmierte Glyzerinmenge, c_1 die Glyzerinkonzentration außerhalb, c_2 jene innerhalb der Zelle ist, und das Konzentrationsgefälle $c_1 - c_2$ nach obiger Berechnung im Mittel 0,17 Grammoleküle beträgt.

Methode von A. Tröndle: Tröndle[1]) machte die Beobachtung, daß Palisaden- und Schwammparenchymzellen von Schnitten eines Lindenblattes und anderer Objekte, die in Kochsalzlösungen von 0,2—5 Moleküle lagen, nach zwölf Stunden noch nicht plasmolysiert, also für NaCl in hohem Grade permeabel waren. Während die Plasmolyse durch Kochsalz dergestalt schon nach 2½—5 Stunden völlig zurückgegangen war, dauerte derselbe Vorgang bei einer annähernd gleichstarken Plasmolyse in Saccharose mehr als 1½ Tage. Während also diese Zellen für Kochsalz relativ stark permeabel sind, dringt Rohrzucker kaum ein; diese beiden Stoffe können daher dazu dienen, eine allfällige Veränderung der Permeabilität für Kochsalz unter dem Einfluß der Belichtung festzustellen, von welchem Moment die Undurchlässigkeit für Saccharose unabhängig ist.

Die Überlegung, von der Tröndle ausgeht, ist folgende: Legen wir einen Schnitt, in dessen Zellen der osmotische Druck P herrscht, in eine Kochsalzlösung, deren osmotischer Druck ebenfalls P ist, so tritt keine Plasmolyse ein, denn während der Versuchszeit dringt eine gewisse Menge NaCl in die Zellen ein, wodurch ein Teil des Außendruckes aufgehoben wird. Der Druck einer osmotisch höherwertigen Lösung, die gerade Plasmolyse bewirkt, sei P_1, sie hält also, da sie eben Plasmolyse bewirkt, dem Zelldruck P das Gleichgewicht, übt also nur den Druck P aus, obwohl sie theoretisch den höheren Druck P_1 erzeugen müßte, sie hat also einen Druckverlust $P_1 - P$ erlitten. Dieser Druckverlust, den die permeirende Lösung erleidet, ist ein Mittel zur Messung der Permeabilität, ein doppelt so hoher Druckverlust bedeutet eine doppelt so hohe Permeabilität. Nun ist der Druck P der Zellen nicht konstant, daher auch nicht der Druckverlust und wir müssen den relativen Druckverlust einführen: den wievielten Teil ihres theoretischen Druckes hat die NaCl-Lösung verloren, also den Wert $P_1 - P = \mu P_1$, wobei P_1 der theoretische Druck der Kochsalzlösung, $P_1 - P$ ihr Druckverlust und μ der Druck-, respektive Permeabilitätskoeffizient ist. $\mu = 1 - \frac{P}{P_1}$ . . . . (1). Um μ experimentell zu bestimmen, muß der theoretische Druck P_1 der eben plasmolysierenden Kochsalzlösung und der osmotische Druck P der Zellen bekannt sein, der gleich ist dem Druck der eben plasmolysierenden, nicht eindringenden Rohrzuckerlösung. Man kann aber auch, statt mit NaCl und Saccharose parallel zu plasmolysieren, den Permeabilitätskoeffizienten anders berechnen. Es werden die plasmolytischen Grenzkonzentrationen von Rohrzucker und Kochsalz ermittelt. Da die beiden Lösungen isotonisch sind, so ist das Verhältnis der Rohrzuckerkonzentration zu der des Kochsalzes, wenn Kochsalz nicht eindringt, gleich dem Dissoziationsfaktor i des Kochsalzes, also $\frac{C\text{-Rohrzucker}}{C\text{-Kochsalz}} = i$ . . . . (2). Da aber,

[1]) A. Tröndle, Der Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wissensch. Botanik 48, 175 (1910).

wie wir gehört haben, das Plasma für NaCl permeabel ist, so tritt bei der Konzentration C-Kochsalz nicht Plasmolyse ein, sondern erst bei der höheren Konzentration C_1, d. h. die Konzentration C_1—NaCl übt nicht ihren wirklichen Druck P_1, sondern nur den Druck P aus. Die Lösung von der Konzentration C_1-NaCl hat also einen Druckverlust μP_1 oder, mit anderen Worten, den Konzentrationsverlust μC_1 — NaCl erlitten, da Druck und Konzentration parallel gehen.

$$C_1\text{-NaCl} - C\text{-NaCl} = \mu C_1\text{-NaCl}$$
$$C\text{-NaCl} = C_1\text{-NaCl}\,(1 - \mu).$$

Dieser Wert in (2) eingesetzt, ergibt:

$$\frac{C\text{-Rohrzucker}}{C_1\text{-NaCl}\,(1-\mu)} = i, \text{ daher } \frac{C\text{-Rohrzucker}}{C_1\text{-NaCl}} = i\,(1-\mu) = i \;.\;.\;.\;.\;.\; (3),$$

d. h. wenn die Plasmamembran für NaCl durchlässig ist, so ist der aus den plasmolytischen Grenzkonzentrationen von Rohrzucker und Kochsalz für NaCl ermittelte Dissoziationsfaktor i_1 identisch mit dem theoretischen Dissoziationsfaktor multipliziert mit $1 - \mu$. Aus (3) ergibt sich für den Permeabilitätskoeffizienten der Wert $\mu = 1 - \frac{i_1}{i} \;.\;.\;.\; (4)$.

In Tröndles Versuchen schwankte die NaCl-Konzentration zwischen 0,6—1,1 Molekülen. Nach der Formel von Arrhenius $i = 1 + (k-1)a$ berechnet sich i für 0,5 Moleküle NaCl zu 1,742, für 1 Molekül zu 1,681, deren mittlerer Wert 1,70 für μ eingesetzt wird.

Die experimentelle Berechnung von μ geschieht folgendermaßen: Frisch hergestellte Schnitte von derselben Stelle des gleichen Blattes werden in kleine Näpfe gebracht, die einerseits Kochsalz-, anderseits Rohrzuckerlösung enthalten, und 25 Minuten darin belassen, hierauf die Schnitte auf Objektträger in die gleichen Lösungen übertragen und die Plasmolyse mikroskopisch in der Weise verfolgt, daß zunächst die Kochsalzpräparate von der schwächsten bis zur stärksten Konzentration und dann ebenso die Zuckerpräparate durchmustert werden. Für jede Messung werden die Näpfe aus den Stammflaschen frisch gefüllt, nachdem sie vorher mit Wasser ausgewaschen wurden. Es gelangten fünf aufeinanderfolgende Kochsalz- und Zuckerkonzentrationen zur Verwendung, deren Differenz beim Rohrzucker 0,075 Moleküle = 2,565 %, beim Kochsalz 0,044 Moleküle = 0,257 % betrug, welche beiden Differenzen isotonisch sind, da $i = 1,7$ genommen wurde. Bei diesen Konzentrationen ist die Plasmolyse in der nächstunteren Lösung deutlich schwächer, in der nächsthöheren deutlich stärker zu beobachten. Die Zuckerlösung muß alle 4—5 Tage, die Kochsalzlösung in entsprechend längeren Zeitabschnitten frisch hergestellt werden. Bei dem angewendeten Konzentrationsunterschied der plasmolysierenden Lösungen reagieren die Zellen sehr deutlich und lassen die geringste Abhebung des Protoplasten erkennen, so daß die Grenzkonzentrationen sich genau feststellen lassen, welche dann angenommen werden, wenn bei den meisten Zellen eben leichte Plasmolyse eintritt, die bei der nächstunteren Konzentration nicht mehr, bei der nächsthöheren deutlich stärker sichtbar ist. Die angewendeten plasmolysierenden Lösungen gestatten die Bestimmung der Grenzkonzentration mit einer Genauigkeit von 0,037 Mol. Saccharose = 1,282 % und von 0,022 Molekülen NaCl = 0,128 % (= 0,22% Salpeter).

Beispiel:

Buxus sempervirens:

NaCl			Saccharose		
Molekül	0,75	keine Plasmolyse	Molekül	1,05	keine Plasmolyse
,,	0,794	,,	,,	1,125	,,
,,	0,838	schwache ,,	,,	1,2	schwache ,,
,,	0,882	etwas stärkere Plasmolyse.	,,	1,275	etwas stärkere Plasmolyse.

Plasmolytische Grenzkonzentration:

NaCl 0,838 Molekül
Saccharose 1,125 ,,

$$i_1 = 1{,}125 : 0{,}838 = 1{,}43$$

$$\mu = 1 - \frac{1{,}43}{1{,}70} = 0{,}159 = 0{,}160.$$

Um den Permeabilitätskoeffizienten μ in Salpeterwerten auszudrücken, wird die Änderung von μ bestimmt, wenn während des Versuches nur die plasmolytische Grenzkonzentration des NaCl sich um einen bestimmten Betrag änderte, die des Rohrzuckers dagegen gleich blieb. So wurde z. B. gefunden, daß eine Änderung von 0,022 Molekülen NaCl eine mittlere Änderung von $\mu = 0{,}0236$ entspricht. Da wir 0,022 Moleküle NaCl isotonisch setzen dürfen mit 0,022 Molekülen Salpeter (= 0,22 %), so entspricht einem Wert von $\mu = 0{,}0236$ ein Salpeterwert von 0,22 %. Daraus berechnet sich für $\mu = 0{,}010$ ein Salpeterwert von 0,093 % = zirka $^1/_{10}$ %. Das heißt also, wenn sich bei gleichbleibendem osmotischen Druck der Permeabilitätskoeffizient für NaCl während des Versuches um den Wert 0,01 erhöht hat, so muß man, um mit NaCl Plasmolyse zu bekommen, eine Konzentration nehmen, deren osmotischer Wert den der anfänglichen Grenzkonzentration des NaCl um $^1/_{10}$ % Salpeter übersteigt.

Neben den plasmolytischen Methoden gründen sich andere auf der Turgorspannung eines lebenden Gewebes, wobei man die Geschwindigkeit der Verlängerung, bzw. Verkürzung eines elastischen Gewebes in den betreffenden Lösungen mißt. Zur Bestimmung der Permeabilität eines gelösten Körpers bringt man das zweckentsprechend geformte Gewebestück in eine mit dem Zellinhalt isotonische oder hypertonische Lösung eines nicht permeierenden Körpers, z. B. Rohrzucker, wartet, bis er sich nicht weiter verkürzt, wechselt dann die Lösung gegen eine mit derselben isotonische Lösung des zu untersuchenden Stoffes aus und mißt die Geschwindigkeit der nun eventuell eintretenden Verlängerung. Die Geschwindigkeit der Volumzunahme der Zellen ist jeden Moment der Beobachtung zugänglich und kann graphisch dargestellt werden; dabei verläuft bei Verwendung ganzer Gewebestücke Verkürzung und Ausdehnung langsam genug, um auch die Permeabilität schnell endosmierender Stoffe zu messen.

H. Lundegårdh[1]) hat eine *bei Wurzeln* mit Vorteil zu verwendende Methodik ausgearbeitet. Verwendet wurden Nebenwurzeln von Vicia faba. Die Keimpflanzen wurden vor der Untersuchung in Gefäße mit Wasser gebracht und dort einige Tage belassen; dann wurde die Spitze mit einem Rasiermesser 10 mm hinter dem Scheitel ab-

[1]) H. Lundegårdh, Kungl. Svenska ventenskapsakademiens Handlingar 47, Nr. 3, Upsala 1911.

geschnitten und in den Apparat gebracht, welcher die Vorteile bietet, das Objekt mikroskopisch beobachten, die Ablesungen mikrometrisch machen und die Flüssigkeiten um das Objekt schnell wechseln zu können, ohne dieses selbst aus dem Gesichtsfeld zu verlieren. Zur Aufnahme des Objektes dient ein mit Zu- und Abflußrohr versehenes Glasschälchen (Fig. 93). Dieses hat 3 cm Durchmesser, 1 cm Höhe, ist oben am Rande mattgeschliffen und mit zwei seitlichen Röhren (Z und A) am Boden versehen. In den Boden ist ein Platindraht eingeschmolzen. Auf diesen Draht wird ein Korkstück K von 6—8 mm Höhe befestigt und mit Paraffin getränkt. In 6 mm Abstand von diesem Korkstück wird ein Bänkchen B von Paraffin, ebenfalls 6—8 mm hoch, am Boden festgeschmolzen und außerdem wird, um den freien Inhalt der Schale möglichst zu verkleinern, ringsherum etwas Paraffin P gegossen. Zur genauen Temperaturbestimmung wird ein besonders konstruiertes Thermometer benutzt, dessen ringförmig angeordnetes Quecksilbergefäß in die Schale eingesenkt wird. Oben ist in das Korkstück mit einer Nadel ein enges Loch gebohrt, und hier wird das Objekt mittels einer eingestochenen dünnen Platinnadel befestigt, so daß seine Spitze auf dem Paraffinbänkchen W ruht. Während der Untersuchung

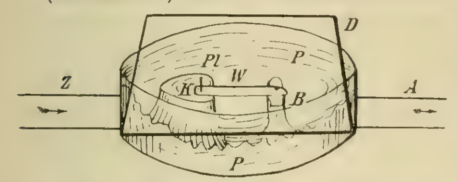


Fig. 93. Glasschälchen des Lundegårdhschen Apparates.

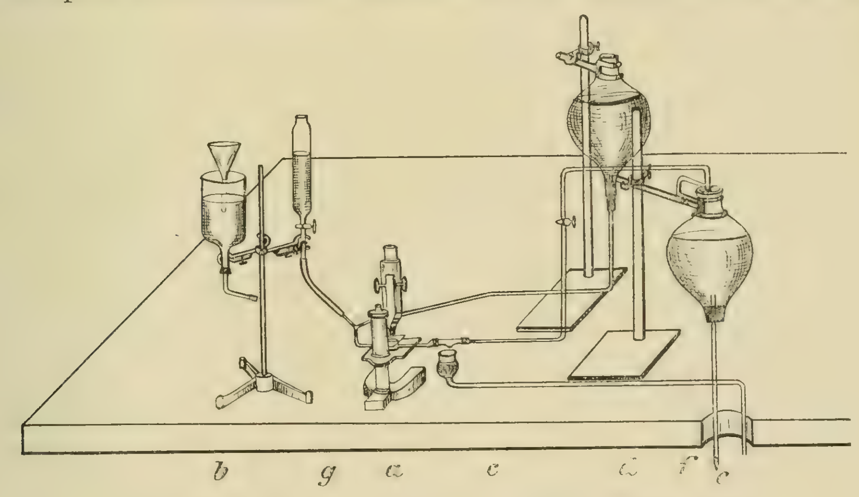


Fig. 94. Lundegårdhs Anordnung zur Bestimmung der plasmolytischen Veränderungen an Gewebestücken.

wird ein großes Deckgläschen (24 × 32 mm) aufgelegt, jedoch so, daß an jeder Seite eine freie Spalte entsteht (D = Deckglas), was für das richtige Funktionieren beim Durchströmen der Flüssigkeit wichtig ist. Die Schale steht auf dem Objekttische des Mikroskops und wird hier durch zwei Klemmen, die auf den seitlichen Röhren a liegen (Fig. 94), festgehalten. Die Röhren sind etwa 6 cm lang, die eine rechtwinklig gebogen, mit einem dreigeteilten Geißlerschen Glashahn versehen. Das eine Zuflußrohr desselben steht mit einem Glasbehälter für destilliertes Wasser in steter Verbindung (d), das andere kann mit den Behältern

oder Trichtern für die plasmolysierenden Agenzien und die zu untersuchenden Flüssigkeiten verbunden werden (*b*). Das Ableitungsrohr der Objektschale *a* ist am Ende etwas aufwärts gebogen und hier durch eine Ligatur mit einem Glasrohre folgenden Aussehens verbunden. Das Rohr besitzt eine seitliche Ausbuchtung und am Scheitel dieser Ausbuchtung ein Loch von zirka 3 mm Durchmesser; das Loch *c* ist nach unten gerichtet und liegt etwas niedriger als der Rand des Objektschälchens; unter dem Loch ist ein Trichterrohr befestigt, das zu einem am Fußboden befindlichen Ableitungsgefäß führt. Wird die Öffnung mit dem Finger oder mit Kautschuk verschlossen, so geht die Ableitung durch das Rohr *f* zum Gefäße *e*, das mit *f* luftdicht verbunden und mit Glashahn versehen ist; ist dieser geöffnet, dann entleert sich *a* sehr schnell. Das Röhrchen *c* dient dazu, die Flüssigkeiten zu wechseln, ohne daß das Objekt der Luft ausgesetzt wird. Wenn nämlich durch den Hahn *g* Flüssigkeit langsam nach *a* strömt, wird sie, sobald die Schale voll ist, bei *c* hinaustropfen. Bei richtiger Niveauregulierung dieser Öffnung kann man es so einrichten, daß *a* immer voll ist, ob Flüssigkeit durchströmt oder nicht; das Bewirkende sind dabei Verhältnisse der Oberflächenspannung und aus diesem Grunde darf das Deckglas die Öffnung der Schale nicht vollständig bedecken. Man kann dadurch die Flüssigkeit in *a* schnell und doch sanft wechseln lassen und auch ein kontinuierliches Durchströmen bewirken, dessen Schnelligkeit an der Anzahl der in der Minute fallenden Tropfen gemessen werden kann. Bevor die Wurzelstücke in den Apparat kommen, werden sie mit Marken versehen, damit die Volumveränderungen bequem abgelesen werden können. Dazu kann man durch Glühen von Eisenoxalat hergestelltes, fein verteiltes Eisenoxyd oder auch Kienruß verwenden.

Die abgeschnittenen Wurzelenden bieten den Vorteil einer kleinen Wurzelfläche, deren besondere Permeabilität man bei vergleichenden Versuchen mit demselben Objekt vernachlässigen kann. Beim Anbringen der Marken läßt man 1 mm Länge an der Spitze und 2 mm am Basalteil außer Betracht. Die Ergebnisse fallen wesentlich verschieden aus, je nachdem die Permeabilität, z. B. für Wasser, erhöht oder erniedrigt wird. Eine Erniedrigung der Permeabilität der äußersten, Zellschichten verlangsamt nämlich die Wasserbewegung ungemein, während eine entsprechende Erhöhung der Permeabilität in derselben Schicht nur einen geringen Einfluß auf das Resultat hat. Bei nur kurzer Einwirkung der permeabilitätsändernden Substanz kann man also eine geringe Erhöhung der Durchlässigkeit kaum, eine Erniedrigung dagegen sofort nachweisen. Ein weiterer Übelstand liegt in den individuellen Schwankungen, die quantitative Unterschiede setzen, so daß aus einer unter denselben Bedingungen ausgeführten Bestimmung ein Mittelwert gezogen werden muß, mit dem die übrigen Versuchsergebnisse derselben Reihe zu vergleichen sind.

Die Permeabilität wird nun so bestimmt, daß man die Volumveränderung mikrometrisch abliest, d. h. den Abstand zwischen den künstlichen Marken (oder der Marke an der Spitze und der Platinnadel) von Zeit zu Zeit bestimmt. Die in Mikrometerwerten ausgedrückten Volumänderungen können nicht ohne weiteres für die graphische Darstellung benutzt werden, da ja der Initialabstand der Marken nicht immer gleich ist, sondern man drückt etwa die Volumänderungen in Prozenten der

beobachteten Turgordehnung (bei hypotonischen Lösungen) aus und hat so ein vergleichbares Maß, das auf die Ordinate aufgetragen wird, während die Zeitintervalle auf der Abszisse Platz finden.

Da die Permeabilität proportional ist der Kontraktionsgeschwindigkeit, so verhält sich die Permeabilität der Kontraktionszeit gegenüber umgekehrt proportional. Stellen wir alle Versuche einer Reihe unter denselben Bedingungen an, vergleichen wir also übereinstimmende oder analoge Vorgänge, so sind die Volumveränderungen gleich groß den durchtretenden Flüssigkeitsmengen. Betrachten wir die Durchtrittsgeschwindigkeit reinen Wassers. Wir haben also das Objekt in ein wasserentziehendes Medium gebracht. Die Verkürzung des Objektes geht anfangs am schnellsten vor sich, denn die elastische Dehnung der Zellwände ist anfangs groß, um bei fortschreitender Kontraktion immer kleiner zu werden, während die Konzentration des Zellsaftes fortgesetzt steigt. Die treibenden Kräfte für den Wasserdurchtritt werden also allmählich kleiner, die Volumänderung in der Zeiteinheit verringert sich und wird bei völliger Entspannung der Zellwand gleich Null. Die Kurve verläuft also anfangs steil und verflacht sich dann. Da die Zeit des Beginnes und des Endpunktes der Verkürzung schwieriger zu bestimmen sind als dazwischenliegende Zeiten, empfiehlt es sich, beim zahlenmäßigen Darstellen nicht jene, sondern diese ins Auge zu fassen; denn der Wechsel der Flüssigkeiten in der Objektschale kann niemals augenblicklich geschehen, die Objekte sind von einer ungleichmäßig dicken Schleimschichte überzogen, der Abstand zwischen den Marken kann verschoben werden und endlich werden die Volumveränderungen gegen Ende des Versuches sehr klein. Würden also nur Anfangs- und Endpunkte bestimmt, so würde die Sicherheit der Ergebnisse leiden, und zwar desto mehr, je größer die Permeabilität und je kürzer die Versuchsdauer ist. Zweckmäßig wählt man nicht die Dauer der ganzen Verkürzung zum Vergleich, sondern die zwischen 25 und 75 % der Turgordehnung verstrichene Zeit, welcher Mittelzeit die Permeabilität indirekt proportional ist. Die Ablesungen sollen nicht zu schnell aufeinanderfolgend gemacht werden, denn Verkürzung oder Verlängerung verlaufen nicht völlig regelmäßig. Immerhin muß man, wenn es sich um Permeabilität von Wasser handelt, Ablesungen nach Sekunden, jedenfalls Bruchteilen von Minuten machen, da hier die Volumveränderungen sehr rasch vonstatten gehen. Im allgemeinen ist es zu empfehlen, entweder ganze Mikrometerintervalle oder ganze Zeitintervalle zu wählen und danach die Zeit- oder Mikrometerablesungen anzupassen[1])

XVIII. Anwendung von Adsorption und Kapillarität zur biochemischen Analyse.

A d s o r p t i o n s m e t h o d e v o n A. T s w e t t[2]): Viele Farbstoffe und farblosen Verbindungen, die in Petroläther, Benzol, Xylol, Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff löslich sind, werden aus den entsprechenden Lösungen durch pulverförmige Körper physikalisch

[1]) Den Abschnitten XVI, XVII, XVIII sind meine gleichnamigen Beiträge aus A b d e r h a l d e n s „Biochemische Arbeitsmethoden“ zugrunde gelegt.

[2]) A. T s w e t t, Ber. d. d. bot. Ges. **24**, 316, 384 (1906).

niedergeschlagen, indem eine Menge des gelösten Körpers an der Oberfläche der festen Partikelchen adsorbiert, d. h. kondensiert wird. Die Verteilung des Stoffes zwischen dem Lösungsmittel und dem Adsorbator gehorcht nicht dem Henryschen Gesetz und der Verteilungskoeffizient ist von der Konzentration abhängig; für einige gelöste Stoffe und Lösungsmittel wird dieser Koeffizient unendlich klein und der gelöste Stoff wird dann vollständig niedergerissen, kann durch das reine Lösungsmittel nicht ausgewaschen werden. Aus ihren Adsorptionsverbindungen lassen sich die Stoffe durch Alkohol, Äther, Azeton, Chloroform befreien. Ein Adsorbator, welcher mit einem Körper gesättigt ist, vermag noch von einem zweiten eine kleine Menge aufzunehmen, wobei Substitutionen eintreten können. Es gibt eine Adsorptionsreihe, welche vom Lösungsmittel abhängig ist. So wird z. B. aus petrolätherischer Lösung Chlorophyll festgehalten durch: einfache Körper (S, Si, Zn, Fe, Al, Pb, Sb), Oxyde (SiO_2, MgO, MnO_2, PbO, Sb_2O_3, Fe_2O_3, Ag_2O, HgO, U_3O_8), Hydroxyde ($B(OH)_3$, NaOH, $Ba(OH)_2$, $Al(OH)_3$), anorganische Chloride (NaCl, KCl, NH_4Cl, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $AlCl_3$, $FeCl_3$, $CoCl_2$, $CuCl_2$, $HgCl_2$), Chlorate ($KClO_3$), KBr, KJO_3, KNO_3, $Ca(NO_3)_2$, Ba $(NO_3)_2$, Phosphate, Sulfide, Sulfite, Sulfate, Karbonate, Silikate, ferner $KMnO_4$, $K_4Fe(CN)_6$, $K_3Fe(CN)_6$, Oxalsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Chinasäure, Gerbsäure, Harnsäure, Pikrinsäure, Phenolphthalein, Oxalate, Azetate, Harnstoff, Asparagin, höhere Alkohole und Kohlehydrate (Mannit, Dulzit, Saccharose, Galaktose, Inulin, Dextrin, Amylose), Ovalbumin, Pepton, Hämoglobin, Chloralhydrat, Hydrochinon, Resorzin, Pyrogallol, Anilinfarbstoffe, Knochenkohle, Ackererde, Kieselguhr usw.

Wird eine Chlorophylllösung durch eine Säule eines Adsorptionsmittels durchgeschickt (am besten verwendet man im Trockenschrank getrocknetes $CaCO_3$, das in Filterröhrchen möglichst gleichmäßig festgestampft wird, wie man sie bei der gravimetrischen Zuckerbestimmung verwendet), so werden die Farbstoffe, gemäß der Adsorptionsreihe von oben nach unten in verschieden gefärbten Zonen auseinandergelegt, indem die stärker adsorbierten Farbstoffe die anderen weiter nach unten verdrängen, die weniger intensiv zurückgehalten werden. Die Zonen grenzen sich viel schärfer gegeneinander ab, wenn man nach beendeter Filtration einen Strom des reinen Lösungsmittels durch den Adsorbator gehen läßt. Die Komponenten eines Farbstoffgemisches werden dergestalt auseinandergelegt und lassen sich nachher qualitativ und quantitativ bestimmen. Ein solches Präparat heißt Chromatogramm und die Methode die chromatographische. Außer Petroläther eignen sich auch Benzol, Xylol, Toluol und besonders Schwefelkohlenstoff als Lösungsmittel. Außer Chlorophyllösungen wurden chromatographisch schon Lezithin, Alkannin, Prodigiosin, Sudan, Cyanin, Solanorubin untersucht.

Sehr wichtig ist, daß das Lösungsmittel nicht durch Wasser, Alkohol und dergleichen verunreinigt sei. Nehmen wir das Beispiel des Chlorophylls, so löst sich dieses Farbstoffgemisch wohl in Alkohol oder Äther mit tiefgrüner Farbe, Petroläther, Schwefelkohlenstoff usw. aber liefern immer mehr oder weniger gelbliche Extrakte. Wenn aber das Blattmaterial vorher mit Alkohol durchtränkt wurde, liefern auch die eben genannten Lösungsmittel sattgrüne Auszüge. Der Petroläther soll etwa 10 % Alkohol enthalten. Nun wird die grüne Lösung mehrmals mit

dem doppelten Volumen Wasser im Scheidetrichter unter fortwährendem Umschütteln ausgewaschen. Der Alkohol geht vollständig ins Wasser und wird aus dem Petroläther so entfernt. Nachdem eine Trocknung des Extraktes über $CaCl_2$ vorgenommen wurde, filtriert man über dem Adsorbator, wobei man das Chromatogramm erhält, während Karotin als gelbe (aus Schwefelkohlenstoff als rosa gefärbte) Lösung durchgeht.

Die mit dem Manometer *M* (Fig. 95) versehene Dreiliterflasche *R* dient als Druckreservoir, in welchem durch die Röhre *D* mittels der Gummibirne *P* ein gewisser Luftdruck hergestellt werden kann. *P* ist mittels des Quetschhahnes *Q* von dem Rest des Apparates luftdicht abschließbar. Die Röhre *D* dient als Druckverteiler; sie ist mit einer Anzahl röhrenförmiger Ansätze versehen, an welche die eigentlichen Filtrationsvorrichtungen zu befestigen sind. Dazu verwende ich zylindrische Filterröhrchen, wie sie bei der gravimetrischen Zuckerbestimmung angewandt werden, welche wie diese in einen schmäleren Teil auslaufen. Ein ausgebauchtes Filtrationsreservoir *r* dazu zu verwenden, wie es Tswett tut, hat sich bei meinen Untersuchungen wegen des

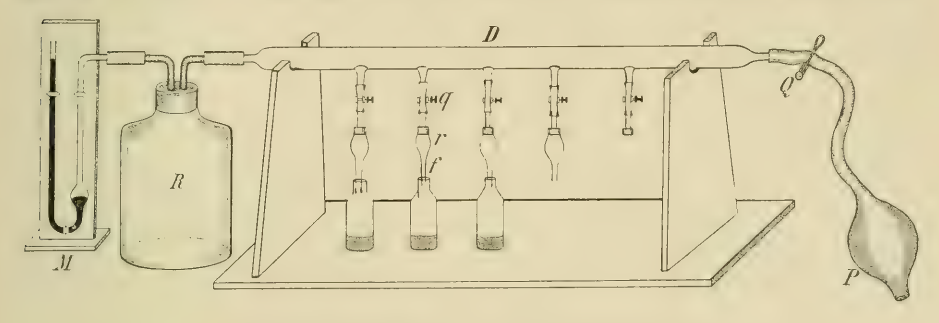


Fig. 95. Chromatographische Anordnung nach Tswett.

schweren Hinausschiebens des Adsorbators zwecks Analyse der einzelnen Farbstoffkomponenten als weniger zweckmäßig erwiesen. Das Filtrationstrichterchen wird mit dem Druckverteiler *D* mittels eines festschließenden Pfropfens in Verbindung gesetzt, durch den eine Glasröhre mit Gummiansatz zieht, wodurch das Filterröhrchen mittels Quetschhahnes beliebig vom Druckreservoir abgetrennt oder mit diesem in Verbindung gesetzt werden kann. Bequemer ist es, für größere Farbstoffmengen das größer gewählte Filterrohr in den Hals einer Saugflasche zu montieren und mittels der Luftpumpe durchzusaugen. Frisch gefälltes, äußerst feinpulveriges Kalziumkarbonat ist als Adsorbens besonders zu empfehlen, ebenso Saccharose. Es wird zwei Stunden bei 150° getrocknet, dann auf den Grund der Adsorptionsröhre ein dichter Wattepfropf eingepreßt, dann in dünnen Schichten das Pulver aufgestreut und mit einem genau passenden Glaspistill sorgfältig festgestampft. Je homogener die Schicht des Adsorbens ausgefallen ist, desto schöner wird das Chromatogramm; die Höhe soll etwa 5—6 cm betragen. Dann wird eine Durchtränkung der Säule mit dem reinen Lösungsmittel vorgenommen; wird das unterlassen, so kommt es beim Filtrieren vor, daß sich die oberen Schichten des Adsorbens abheben und Luftblasen die regelmäßige Textur des Chromatogramms beeinträchtigen. Das Filtrieren im kleinen wird unter einem Über-

druck von 250 bis 300 mm, das der größeren Röhren bei voller Kraft der Wasserstrahlpumpe vorgenommen.

Nach Aufgießen der Farbstofflösung läßt man einen Strom des reinen Lösungsmittels folgen, wodurch das Chromatogramm sich ausbreitet und verschärft. Nicht adsorbirte Stoffe werden herausgeschwemmt. Andere wieder wandern ringförmig durch und können für sich aufgefangen werden. Nach beendeter Filtration wird durch Absaugen der Überschuß des Lösungsmittels entfernt und die Farbsäule sorgfältig hinausgeschoben, um dann durch das Messer vorsichtig in feine Bestandteile getrennt zu werden.

Chromogramm-Methode von J. Grüß zur Analyse von Enzymen[1]: Auf ausgespanntes schwedisches Filtrierpapier bringt man zunächst einen Wasserring, d. h. man feuchtet eine ringförmige Zone gleichmäßig an (durch Aufdrücken von angefeuchtetem, um eine Glasröhre gelegtem Filtrierpapier). In das Zentrum bringt man z. B. zwei Tropfen einer mit $HgCl_2$ und $NiCl_2$ gesättigten Lösung, die alsbald mit dem Wasserring in Berührung kommen und denselben nach außen drängen. Der Vorgang, der im dampfgesättigten Raume stattfinden muß und bei veränderlichen Körpern noch unter Wasserstoff, kommt schließlich zur Ruhe. Alsdann zerschneidet man das Kapillarisationsfeld in Sektoren, die man auf Fließpapier bringt, welches man mit den verschiedenen Reagenzlösungen getränkt hat. Nach der Einwirkung fügt man die Sektoren zum Chromogramm wieder zusammen, auf welchem dann verschiedene Zonen sichtbar geworden sind. Als Indikatoren kann man $K_4Fe(CN)_6$ und JK verwenden. Auf dem Chromogramm erscheinen dann zwei Zonen: die äußere ist blaugrün, enthält das Nickelsalz und hat eine Breite von 8 mm; die innere, zentrale Zone ist rot, enthält das Quecksilbersalz und hat einen Durchmesser von 7—7,5 cm, die Breite der äußeren Zone ist ohne Wasserring nur 2 mm.

Die mit ein wenig Toluolwasser verdünnte Masse einer obergärigen Hefe, die mit Glaspulver und Glyzerin zerrieben worden war, wurde in der Weise in das Zentrum des Wasserringes gegeben, daß die einzelnen Tropfen nacheinander auffielen. Nachdem unter Wasserstoff sich ein Kapillarisationsfeld ausgebildet hatte, wurde auf demselben die Oxydasereaktion mit Guajak und H_2O_2 hervorgerufen, wodurch ein weißes Feld mit violetten Ringen entstand. Die Hefe enthielt demnach Oxydase und Hydrogenase, welche H_2O_2 spalten. Die violetten Ringe entsprechen den einzelnen Tropfen. Ein ähnliches Feld, aber mit einfacher Ringbildung, wurde mit Schwefelblumen gleichmäßig bestäubt und dann halbiert. Die eine Hälfte wurde mit Toluolwasser, das zirka 10 % Glukose enthielt, das andere ohne Glukose angefeuchtet. Beide wurden mit in Bleizuckerlösung getränktem Papier, das auf einer Glasplatte haftete, in 1 mm Entfernung zum Auffangen des H_2S überdeckt und kamen in Wasserstoff. Nach 24 Stunden war die Glukosehälfte des Bleipapiers weit mehr geschwärzt, hier war daher durch die Hydrogenase viel mehr H_2S geliefert worden. Das vollständige Chromogramm, das man vom Zellsaft obergäriger Hefen erhalten kann, zeigt von außen nach innen die in den einzelnen Zonen bestehende Enzymwirkung an: Per-

[1]) J. Grüß, Ber. d. deutschen bot. Ges. 26a, 191, 620 (1908), 27, 313 (1909).

oxydase, Hydrogenase, Oxydase, Invertase, Zymase, welche letztere auch stark reduzierende Eigenschaften besitzt. Die Enzyme können also durch gleichzeitige Kapillaritäts- und Diffusionswirkung voneinander getrennt, nebeneinander in ihrer Wirkung beobachtet und verglichen werden.

Beispiel der Cytase: Die herauspräparierten und sogleich unter Wasserstoff aufbewahrten Endosperme von Gramineen werden mit einigen Tropfen Glyzerin zerrieben und die Masse auf ausgespanntes Filtrierpapier in einem Wasserring unter Wasserstoff gegeben. Wenn sich das Kapillarisationsfeld nicht mehr ausbreitet, sucht man mittels einer mit Guajak und H_2O_2 befeuchteten Rolle Filtrierpapier die Randlinie zu markieren, die jedoch meistens ohnedies hervortritt. Man schneidet diese Randlinie in einer Breite von zirka 1 mm aus und schichtet Stücke derselben auf einem großen Deckglas spaltförmig zusammen. In den schmalen Zwischenraum bringt man die Testobjekte, also ausgewaschene dünne Schnitte aus den Kotyledonen der Lupine und Stärkekörner. Man läßt nun von der äußeren Seite der Papierstreifen her je 1—2 Tropfen Thymolwasser hinzufließen und kittet dann das so beschickte Deckgläschen mittels Vaseline auf den hohlen Glasklotz, der einige Tropfen Wasser mit Thymol oder Toluol enthält. Nach 48 Stunden kann man unter dem Mikroskop sowohl die Lösung der Hemizellulose als auch die Korrosion der Stärkekörner beobachten.

Beispiel der Oxydase: Die zerschnittenen Endknospen der jungen Triebe von Pteris aquilina werden mit Wasser ausgepreßt. Man bringt einige Tropfen des unter Druck filtrierten, mit Thymolwasser verdünnten Preßsaftes auf den Kapillarisator und behandelt das Feld mit Guajak und H_2O_2; es wird blau mit einer stärker gefärbten Mittelfläche, umgeben von einer weißen Zone, die von einer intensiv blauen Randlinie begrenzt wird. Diese ungefärbte, weißbleibende Randzone enthält eine Antioxydase; dann untersucht man ein Kapillarisationsfeld mit Ursoltartratlösung und H_2O_2, so erhält man eine weiße Kreisfläche mit schwach dunkler, schieferfarbiger Randlinie, während unterhalb derselben die gelbbraune Färbung infolge Autoxydation erscheint. Verwendet man zur Kapillarisation einen an der Luft dunkel gewordenen Extrakt, so kann man sehen, daß der braune Farbstoff gleichfalls bis in die äußerste Randlinie vorgerückt ist, woraus man schließen kann, daß sich die Oxydase durch Autoxydation selbst verfärbt oder aber, daß sich Oxydase und Farbstoff in einer Bindung vorfinden, die durch Kapillarisation nicht getrennt werden kann.

Bringt man den alkalisch gemachten, braun gewordenen Extrakt auf den Kapillarisator und das sich bildende Feld, bevor es seine endgültige Ausdehnung erlangt hat, in Essigsäuredampf, so tritt eine Fällung des Farbstoffes ein und die oxydierenden Enzyme kristallisieren über die Farbstoffgrenze hinaus. Nimmt man dann die Essigsäure durch Ammoniakdampf weg, so kann man durch entsprechende Reaktionen Oxydase und Peroxydase nachweisen.

Quantitative Bestimmung von Säuren und Alkalien durch Kapillarität:[1]) Zieht man auf einem Fließ-

---

[1]) J. Holmgren, Zeitschr. f. Kolloide IV, 219; Biochem. Zeitschr., Heft 3, 4 (1908); Zd. H. Skraup, Sitz.-Ber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien, 118,(1909).

papier Striche mit Kongolösung, läßt dann in der Mitte aus einer kapillaren Pipette die zu untersuchende Säure ausfließen und mißt den Durchmesser der zwei Kreise, die sich nach einiger Zeit bleibend einstellen, nämlich des durch das Reagens gefärbten und des anderen farblosen, durch reines, kapillar aufgezogenes Wasser gebildeten Kreises, so hat der innere Kreis den Kongostrich gebläut, der feuchte Ring um diesen jedoch nicht und dessen äußere Begrenzung gibt die Strecke an, bis zu der das Wasser gedrungen ist, während der innere Ring angibt, bis wohin die Säure gedrungen ist. Holmgren hat für die quantitative Bestimmung die Formel aufgestellt: $P = K \cdot \frac{r^2 R}{R^2 - i^2}$, wo P der Prozentgehalt der untersuchten Säure, r der Halbmesser des „sauren", R jener des „feuchten" Kreises und K die Konstante der benutzten Papiersorte ist, welche man durch einen Versuch mit einer Säure bekannter Konzentration ermittelt. Man kann ebensogut die Adsorption in Längsstreifen von Indikatorpapier verwenden, die man in die zu untersuchende Lösung taucht, wobei man nicht die Steighöhen, sondern deren Quadrate in Rechnung zieht, also die Holmgrensche Formel auch hier verwendet. Die Konstante für das Holmgrensche Papier ist bei $\frac{n}{5}, \frac{n}{10}, \frac{n}{20}$ HCl 0,20, 0,30, 0,32, bei der Absorption in Streifen 0,37, 0,30, 0,44. Läßt man HCl, HNO_3, H_2SO_4 in äquivalenten Konzentrationen aufsteigen, so findet man gar keinen Unterschied bei diesen stark dissoziierten Säuren.

Die Steighöhe, bis zu welcher bei Lackmus- oder Kongopapier Farbenänderung eingetreten war, betrug, wenn das Wasser 100 mm aufgestiegen war:

	n	$\frac{n}{5}$	$\frac{n}{10}$	$\frac{n}{20}$	$\frac{n}{100}$
Salzsäure	95	81	70	55	19
Bromwasserstoffsäure	—	—	75	57	21
Jodwasserstoffsäure	—	—	67	54	21
Salpetersäure	96	—	68	54	21
Schwefelsäure	97	—	65	56	19
Natronlauge	94	—	75	66	50
Kalilauge	97	—	73	63	48
Ammoniak	—	—	78	85	50
Äthylamin	—	—	87	83	59
Oxalsäure	94	—	70	53	18
Ameisensäure	—	—	—	—	—
Essigsäure	—	—	87	75	39
Propionsäure	—	—	88	75	37
Valeriansäure	—	—	85	—	—
Bernsteinsäure	—	—	90	87	53
Zitronensäure	—	—	89	72	39
Weinsäure	—	—	79	65	23

Starke Alkalielektrolyten verhalten sich also bei größerer Konzentration wie starke Mineralsäuren, bei verdünnten sind die Steighöhen größer; bei schwachen Elektrolyten sind die Steighöhen auch wieder größer als bei äquivalenten Lösungen starker Elektrolyte.

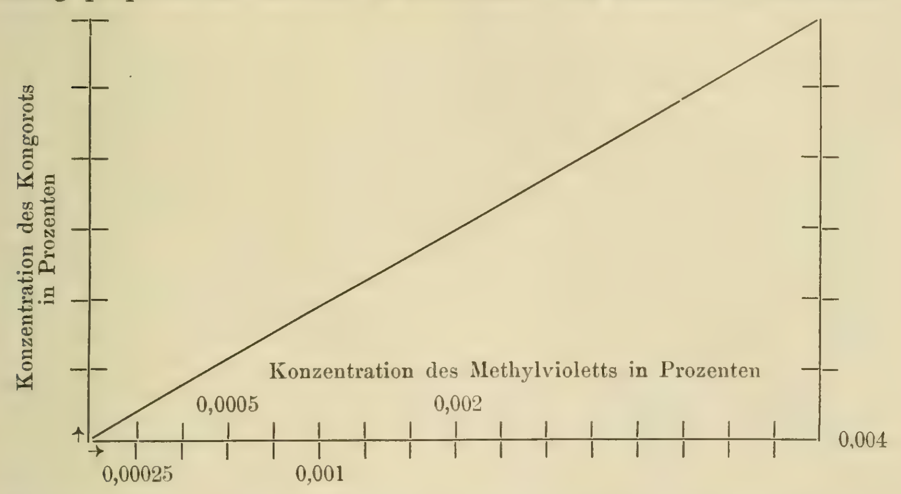
Bei Salzen läßt sich auch die mit fortschreitender Verdünnung steigende Hydrolyse erkennen.

Biologische Methoden von J. Szücs zur quan-

titativen Bestimmung basischer und sauerer Farbstoffe[1]: Szücs hat gefunden, daß bei Gegenwart von sauren Farbstoffen die Aufnahme von basischen Farbstoffen in das Plasma gehemmt wird, indem sich saure und basische Farbstoffe zu salzartigen Verbindungen vereinigen, für welche die Plasmahaut impermeabel ist. Als Versuchsobjekt dienten Spirogyrafäden und die Würzelchen von Lemna minor, als diffundierende Farbstoffe Neutralrot, Methylviolett und Kongorot. Es sei eine Tabelle wiedergegeben (Tabelle XIII der Originalabhandlung):

Konzentration des Methylvioletts in %	Die letzte experimentell bestimmte Konzentration des Kongorots, die noch nicht hinreicht, den Eintritt des Methylvioletts bis auf 10 Minuten herauszuschieben	Konzentration des Kongorots in %
0,00025	0,0001	0,00012
0,0005	0,00024	0,00028
0,001	0,00052	0,00056
0,002	0,00108	0,00112
0,004	0,00212	0,00224

Die hemmende Konzentration des sauren Farbstoffes steigt also streng proportional mit der Konzentration des basischen Farbstoffes,



was aus obiger Zeichnung noch deutlicher wird. Die verwendeten Spirogyrafäden müssen, sollen die Versuche untereinander vergleichbar sein, von derselben Art sein und von demselben Fundort stammen. Die Fäden werden in destilliertem Wasser sorgfältig abgewaschen und je nach der Empfindlichkeit der Art 5 Minuten bis eine Stunde darin belassen, die ausgewaschenen Fäden mittels eines am Ende gebogenen Platindrahtes in die betreffende Farbstofflösung gehängt und die Farbstofflösung während des Versuches beständig in Bewegung gehalten. Nach einer bestimmten Zeit werden die Fäden aus der Farbstofflösung heraus-

[1]) J. Szücs, Studien über Protoplasmapermeabilität, Sitz.-Ber. d. kais. Akademie d. Wiss. Wien, 119 (1910).

gehoben und in eine hypertonische $Ca(NO_3)_2$-Lösung übertragen: dadurch wird der in der Zellulosemembran gespeicherte Farbstoff entfernt, die weitere Farbstoffdiffusion verhindert. Im Unterlassungsfalle bleibt in der Zellulosemembran eine bestimmte Menge des Farbstoffes, die nach dem Herausheben des Fadens aus der Farblösung noch eine unbestimmte Zeit hindurch weiter in die Zelle diffundiert. Durch das Eintauchen in die Elektrolytlösung kann man aber den Diffusionsprozeß nach beliebiger Versuchszeit praktisch momentan abbrechen. Die Versuchszeit wird mit der Stoppuhr gemessen. Bei Lemna wurden die Wurzeln abgeschnitten, die entwurzelten Exemplare auf nasse Gartenerde in Glaswannen gelegt. Die Kalyptrazellen der regenerierten jungen Wurzeln dienten als Versuchsobjekte.

XIX. Die Vorgänge bei der Atmung.

Daß die grüne Pflanze atmet, d. h. wie jeder andere höhere Organismus durch Oxydation von Körperstoffen die für ihren Lebensbetrieb erforderliche Energie gewinnt, ist für den Physiologen selbstverständlich, und doch können wir namentlich in ausgezeichneten Lehrbüchern der Chemie, auch in ganz modernen, Bemerkungen wie die folgende finden: „Auch die Pflanzen nehmen Luft auf; während aber die Tiere aus letzterer einen Teil ihres Sauerstoffs aufnehmen und für die Zwecke ihres Lebens verwenden und dafür Kohlenoxyd an die Luft abgeben, ist das Verhältnis bei den im Sonnenlichte atmenden Pflanzen ein umgekehrtes; sie nehmen nämlich aus der Luft vornehmlich Kohlensäure auf und geben Sauerstoff ab. Sie geben also gewissermaßen der Luft denjenigen Sauerstoff, welchen ihr die Tiere und die brennenden Körper entziehen, wieder zurück. Dies gilt aber nur von den grünen Pflanzenteilen im Lichte, die Atmung der Blüten ist der tierischen Atmung analog, und im Dunkeln nehmen sogar die grünen Pflanzenteile Sauerstoff aus der Luft auf, aber so langsam, daß nur ein Bruchteil der am Tage von einer Pflanze produzierten Sauerstoffmenge in der Nacht wieder von ihr verzehrt wird."[1]) Wie man sieht, liegt hier eine und, wie gesagt, selbst unter Naturhistorikern anderer Disziplinen sehr verbreitete Verwechslung von Sauerstoffatmung und Kohlensäureassimilation vor. Während die Assimilation nur im Lichte vor sich geht und ihr Gaswechsel in der Absorption von Kohlensäure und Abgabe eines der Formation von Kohlehydraten entsprechenden gleichgroßen Sauerstoffvolumens besteht, wird bei der Atmung bei Tag und bei Nacht Sauerstoff aufgenommen und Kohlensäure dafür abgegeben. Das Verhältnis der abgegebenen Kohlensäure zum aufgenommenen Sauerstoff ist natürlich von der Art des Verbrennungsmaterials abhängig; so ist der Atmungskoeffizient $\frac{CO_2}{O_2}$ bei der Verbrennung von Kohlehydraten gleich 1, bei der Atmung keimender Fettsamen, also bei der Verbrennung eines Materials, welches viel sauerstoffärmer ist als die Kohlehydrate, bleibt er stark unterhalb 1, da relativ viel mehr Sauerstoff aufgenommen werden muß; werden aber Fettsamen auf Rohrzuckerlösungen kultiviert,

[1]) H. Erdmann, Lehrbuch der anorganischen Chemie. Braunschweig 1910, S. 95.

wie das in den Versuchen von P o l w z o w geschah, so wird der Zucker als Atmungsmaterial dem Fett vorgezogen und der Atmungskoeffizient nähert sich 1. Umgekehrt ist es beim Reifen von Früchten mit fetthaltigen Samen, also bei der Ablagerung des Reservefettes, das sich aus den Kohlehydraten der Assimilation bildet, wobei der überschüssige Sauerstoff abgegeben werden muß; es tritt also eine vermehrte Kohlendioxydabgabe ohne entsprechende Sauerstoffaufnahme ein und $\frac{CO_2}{O_2} > 1$; so wurden von reifenden Mohnfrüchten in Versuchen G o d l e w s k i s 23,72 ccm Sauerstoff absorbiert und 32,62 ccm Kohlendioxyd dafür abgeschieden, daher $\frac{CO_2}{O_2} = 1{,}5 > 1$. Übrigens bleibt das Verhältnis $\frac{CO_2}{O_2}$ während der Entwicklung der Pflanze überhaupt nicht konstant, ist auch bei Stärkepflanzen nur in den ersten Keimungsstadien 1, wird aber mit steigender Wachstumsgeschwindigkeit immer kleiner; auch P a l l a d i n fand bei herausgeschnittenen wachsenden Internodien verschiedener Pflanzen $\frac{CO_2}{O_2} < 1$, wachsende Organe absorbieren also einen Überschuß von Sauerstoff; je kräftiger die Pflanze wächst, desto ausgiebiger ist ihre Sauerstoffabsorption und Kohlensäureausscheidung. Ebenso wie es eine Wachstumskurve gibt, in welcher sich das anfangs langsame, dann immer schneller werdende, bis zu einem Maximum emporsteigende und dann wieder langsam abfallende Tempo des Wachstums ausdrückt, so läßt sich auch eine der großen Wachstumskurve fast parallel laufende Atmungskurve (Fig. 96) ziehen, indem beide zu Beginn gering sind, dann immer rascher ansteigen, um von einem Maximum an wieder zu sinken. Diese Atmungskurve wird zuerst von A. M a y e r mittels Sauerstoffbestimmungen und später von B o r o d i n und R i s c h a v i (Fig. 97) durch Messung der abgegebenen Kohlensäure aufgezeigt.

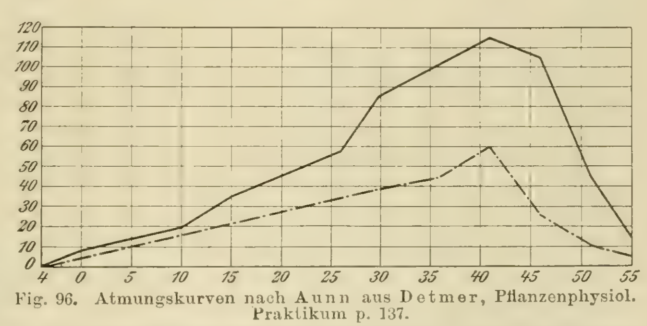


Fig. 96. Atmungskurven nach A u n n aus D e t m e r, Pflanzenphysiol. Praktikum p. 137.
——— Kohlendioxydabgabe pro 100 g Lupinus luteus in der Stunde bei der normalen, —·—·— bei der intramolekularen Atmung.

Wiewohl die beiden Prozesse der Atmung und Kohlensäureassimilation einander parallel laufen und offenbar von verschiedenen Stellen des Plastids ausgehen, auch durch verschiedene Momente stimuliert oder geschädigt werden können (so sistierten B o n n i e r und M a n g i n durch Narkose wohl die Assimilation, bewirkten aber dadurch doch kein Stillstehen der Atmung), so ist damit aber durchaus nicht gesagt, daß diese beiden Vorgänge nicht in physiologischer Korrelation stehen, und man kann natürlich nicht die plasmatische Grundlage der Zelle alterieren, ohne auch die Atmung in Mitleidenschaft zu ziehen, wie namentlich P a l l a d i n zeigen konnte, der die Abhängigkeit der Atmung von den Zellipoiden, dem „Kitt" des Protoplasmas, nachwies. Allerdings ist die Atmung als solche, nämlich als Gaswechsel, viel wider-

standsfähiger gegen äußere Einflüsse als andere Stoffwechselprozesse, denn sie wird zum Teil durch Enzymtätigkeit repräsentiert. Wiewohl der gesamte Atmungsvorgang nicht als Summe von Fermentwirkungen aufzufassen ist, sondern die regulierende Plasmatätigkeit die Hauptrolle dabei spielt, kann man doch neben der plasmatischen die rein enzymatische, auch nach dem Tode des Plasmas (besser gesagt, um mich des Palladinschen Ausdruckes zu bedienen, nach „Abtötung" des Plasmas, wobei die Enzyme intakt bleiben, also nicht nach dem „Absterben") vor sich gehende Atmung, d. h. Aufnahme von Sauerstoff und Abgabe von Kohlendioxyd beobachten. Aber auch wenn die enzymatische Atmung sistiert, findet noch durch katalytische Vorgänge ein wenn auch bedeutend herabgesetzter gleichsinniger Gaswechsel statt den ich als „tote Oxydation" bezeichnet habe. Nach der Palladinschen Gefriermethode abgetötete Keimlinge gaben noch reichliche Mengen Kohlendioxyd ab. Molisch konnte an im Exsikkator rauschdürr gewordenen Blättern, von Lamium album mit der Leuchtbakterienmethode nachweisbare Sauerstoffabsorption zeigen, und ich habe nachgewiesen, daß Blätter von Eupatorium adenophorum nach der Erhitzung auf 120 °, also nachdem sicherlich jede Enzymtätigkeit aufgehört hatte, unter aseptischen Bedingungen Kohlensäure abgaben. Ob alle drei Formen des Gasaustausches während des Lebens der Zelle vereinigt sind oder ob sie einander an der Wirkungsgrenze ablösen, läßt sich schwer sagen, aber das erstere ist durchaus wahrscheinlich. Es ist auch die Vermutung nicht von der Hand zu weisen, daß die Prozesse der Assimilation und Atmung auch insofern miteinander verknüpft sind, daß die Kohlensäure als Endprodukt der Atmung unter geeigneten Verhältnissen gleich Verwendung als Ausgangsmaterial für die Assimilation Verwendung findet und umgekehrt der Sauerstoff aus der Assimilationstätigkeit gleich in den Atmungsgaswechsel eingeht.

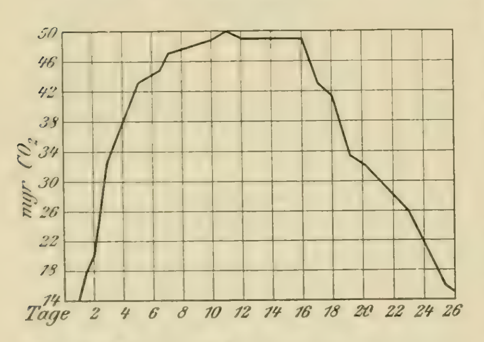


Fig. 97. Kurve nach Rischavi (aus Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie p. 253). CO_2-Abgabe in Milligramm von 40 Weizenpflänzchen bei 21° C.

Ein Unterschied in der Atmung der höheren Pflanzen und Tiere liegt aber darin, daß die Pflanze längere Zeit ihr Leben ohne freien Sauerstoff fristen kann und in diesem Falle ihren Energiebedarf durch intramolekulare Spaltung höherer Kohlenstoffkomplexe deckt, während das Tier mit dieser Art des Energiegewinnes nicht ausreicht, sondern der oxybiotischen Verbrennungen bedarf (freilich sind von Pflüger Schildkröten und Frösche unter vollkommenem Sauerstoffabschluß tagelang lebend erhalten worden). Diese intramolekulare Atmung ist wesensgleich mit der Pilzgärung und führt auch zu denselben Produkten wie diese. Die Forschungen, namentlich der russischen Schule, haben gezeigt, daß auch die erste Phase der regulären Sauerstoffatmung die intramolekulare Zerspaltung ist, daß es aber nicht zur Stabilisierung der Endprodukte der Gärung, wie des Äthylalkohols, kommt, sondern daß schon die Vorstufen der normalen Gärungsprodukte der Verbrennung anheimfallen. Nichtsdestoweniger hat Iwanoff gezeigt,

daß Phosphate, welche die Alkoholgärung stark stimulieren, auch auf die Atmung der Samenpflanzen dieselbe Wirkung ausüben, und Zaleski und Reinhardt wiesen nach, daß durch Phosphate nicht nur die anaërobe, sondern auch die Oxydationsphase der Atmung stimuliert wird.

Sauerstoff ist schon für die ersten Keimungsstadien des Samens notwendig, ohne Zutritt von Luft ist keine Keimung möglich, was ja nicht wundernehmen kann, da die Keimung den Beginn des Wachstums darstellt, wozu natürlich Energieaufwand nötig ist. Werden Samen in Wasser versenkt, das nicht erneuert wird, so keimen nur die obenauf schwimmenden, mit der Luft in Berührung stehenden Samen. Bohnensamen oder Samen von Wasserpflanzen in ausgekochtes Wasser in ein gut verschlossenes Gefäß gebracht oder vor dem Zutritt von Luft durch eine Ölschicht geschützt, keimen nicht, ebensowenig wenn sie in sauerstoffreier Luft, in Stickstoff, Kohlensäure, Wasserstoff eingeschlossen sind, oder auch nicht, wenn sie sich in sehr engem Raume eingesperrt finden; deshalb gelingt es nie, angequellte, in eine Glasröhre eingeschmolzene Samen zu weiterem Keimen zu bringen. Nach Osterhout (zitiert nach L. und K. Linsbauer) füllt man fünf gleich große Flaschen mit Wasser und wirft dann so viel trockenen Sand hinein, daß er die erste Flasche zu einem Sechstel, die zweite zu zwei Sechsteln usw., die letzte zu fünf Sechsteln ihrer Höhe anfüllt, wodurch ein Teil des Wassers verdrängt wird und abfließt. Nach dem Absetzen des Sandes gießt man auch das übrige Wasser fort, so daß in den Gefäßen nur luftfreier nasser Sand zurückbleibt. Nun setzt man überall eine gleiche Menge gequollener Samen oder gleichentwickelter Keimlinge hinein, verkorkt und versiegelt die Flaschen luftdicht. Den einzelnen Samen- oder Keimlingsportionen stehen also verschiedene Luftmengen zur Verfügung und man kann nun beobachten, daß diejenigen Samen, denen am meisten Sauerstoff geboten ist, sich am längsten entwickeln, die anderen je nach dem zur Verfügung stehenden Luftquantum früher oder später die Entwicklung einstellen. Kann zwischen das Sand- oder Sägespänesubstrat Luft eindringen, dann geht die Entwicklung normal vor sich. Besonders die Wurzeln haben ein großes Sauerstoffbedürfnis, und das ist auch der Grund, weshalb bei Wasserkulturen stets Luft eingeleitet werden soll. Unter Wasser versenkte Samen genießen aber genügend Luftzutritt, wenn das sie in nicht zu hoher Schicht bedeckende Wasser bewegt wird, ihre Keimung geht dann lebhaft vor sich. Eine kleine Menge Sauerstoff enthält ohnehin jeder Samen in seinem luftführenden Gewebe und je lockerer dieses ist und ein je geringeres spezifisches Gewicht es hat, desto mehr Luft schließt es ein, 7—50 % seines Volumens. Dieser Sauerstoff gibt den ersten Anstoß zur Keimung, so daß mit Wasser ganz injizierte, unter der Luftpumpe sauerstofffrei gemachte Samen aus diesem Grunde nicht keimen. Indessen ist umgekehrt auch eine überreichliche Sauerstoffdarbietung durchaus nicht keimungsbefördernd. In reinem Sauerstoff tritt keine Keimung ein oder zeigen doch die Keimlinge ein kränkliches Aussehen und gehen nachher auch in normaler Luft ein. Zea Mays, Ervum lens u. a. kommen nicht über die ersten Stadien der Wurzel- und Stengelbildung hinaus, Keime von Lepidium sat., Helianthus annuus bleiben in Sauerstoff durchschnittlich kleiner als normale und Triticum vulgaris usw. zeigen wohl größere Blätter als Normalpflanzen, die Blätter sind aber gelb und kränklich.

Die Keimung der Samen vollzieht sich auf Kosten des Reservematerials, welches dabei aufgebraucht wird. Aus diesem Grunde ist das Trockengewicht der Dunkelkeimlinge bedeutend kleiner als das Trockengewicht der Samen, aus denen sie sich entwickelt haben, und selbst bei im Lichte vegetierenden Keimlingen übertrifft der Verlust durch Verbrennung bei der Atmung die Ansatzgröße so bedeutend, daß gewöhnlich während der ersten Wochen kein nennenswerter Substanzgewinn gegenüber dem Samengewicht zu verzeichnen ist.

Bei der Keimung von Stärkesamen ist der Verlust auf Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff der organischen Substanz zu beziehen, während die Stickstoff- und Aschensubstanz ungeändert bleibt. Die Stärke wird zum großen Teil durch Diastase gespalten, so daß noch ein Überschuß von Zucker bleibt, auch der Betrag der Zellulose wird beträchtlich vermehrt. Bei der Keimung von Leguminosensamen, die Eiweiß als Reservestoff führen, wird auch dieses unter Bildung von Asparagin und anderen Aminosäuren gespalten, als Nebenprodukt der Eiweißspaltung tritt Schwefelsäure in Form von Sulfaten in zunehmender Menge auf. Die Fettspaltung bei der Keimung von Fettsamen hat eine Steigerung der Menge der Fettsäuren zur Folge, und zwar entstehen zuerst gesättigte und erst aus diesen ungesättigte Fettsäuren. Folgende (der Physiologie von P a l l a d i n entnommenen) Zahlen sollen diese Verhältnisse illustrieren:

	Gesamtgewicht	C g	H g	O g	N g	Asche g
46 Weizensamen. . .	1,665	0,758	0,095	0,718	0,057	0,038
46 Weizenkeimlinge . .	0,722	0,293	0,043	0,282	0,057	0,038
Differenz in Grammen.	— 0,943	— 0,465	— 0,052	— 0,436	—	—

	Trockensubstanz	Stärke + Dextrine	Glukose + Saccharose	Fett	Zellulose
22 Maissamen . . .	8,636 g	6,386 g	—	0,463 g	0,516 g
22 Maiskeimlinge . .	4,529 g	0,777 g	0,953 g	0,150 g	1,316 g
Differenz in Grammen	— 4,107	— 5,609	+ 0,953	— 0,313	+ 0,800

	Trockensubstanz	Eiweiß	Asparagin	andere N-haltige Stoffe	Glukose	Zellulose	Schwefelsäure
	g	g	g	g	g	g	g
Samen von Lupinus luteus	100,00	45,07	—	11,66	—	3,24	0,385
Keimpflanzen von Lupinus luteus	81,70	11,06	18,22	23,97	2,10	6,47	0,610
Differenz in Proz.	18,30	— 33,41	+ 18,22	+ 12,31	+ 2,10	+ 3,23	+ 0,225

Zwanzig Mohnsamen enthielten 8,915 g Fett und 0,975 g freie Fettsäuren; nach viertägiger Keimung wurden 3,770 g freie Fettsäuren und nur 3,900 g Fett gefunden. Glyzerin war jedoch in den Keimpflanzen nicht vorhanden. Indessen habe ich bei Keimlingen von Cucurbita Pepo und anderen Keimlingen aus Fettsamen, die in einer mit Leuchtgas

oder Azetylen verunreinigten Atmosphäre zur Entwicklung gebracht worden waren, nicht nur eine Vermehrung von Fettsäuren, sondern auch Glyzerin nachweisen können, offenbar weil das letztere nicht wie sonst schnell in Zucker übergeführt und veratmet wurde.

Daß die Entwicklung des Embryo mit einer starken Sauerstoffaufnahme verbunden ist, hat auch L a s k o v s k y in Versuchen mit Kürbissamen konstatiert, bei welchen er folgende Zahlen fand:

Temperatur	Trockensubst. vor d. Keimung mg	Trockensubst. nach d. Keimung mg	Prozent Trockens. Verlust	Verlust C mg	H	Gewinn O in mg
16 °	7081	6997	98,22	85	+ 2	— 20
16—25 °	6947	6794	97,07	385	—42	+ 265
16 °	6838	6416	92,23	600	88	263
16—22 °	6361	6081	94,59	533	61	316
25 °	6011	5892	97,28	239	39	159
25—32 °	7060	6646	95.32	601	76	249
25—28 °	5909	5575	93,67	554	94	319

P e t e r s untersuchte Kürbissamen in vier verschiedenen Perioden: 1. im ruhenden Zustand vor der Keimung, 2. nachdem das Würzelchen eine Länge von 2 bis 4 ccm erreicht hatte, 3. als die ersten 5 bis 6 Nebenwurzeln 2—3 cm lang und die Kotyledonen grün geworden waren, 4. als die Primordialblätter in ausgebreitetem Zustand schon eine beträchtliche Größe erreicht hatten. Für jeden Versuch wurden 1000 Objekte verwendet:

Bestandteile	Ruhender Keim	Keimpflanzen		
	g	1. Periode g	2. Periode g	3. Periode g
Öl	136,65	103,51	56,43	12,98
Zucker	Spuren	3,81	9,48	12,98
Gummi	Spuren	2,56	3,55	6,13
Stärke	—	8,89	17,50	6,63
Zellulose	8,34	9,33	12,23	21,20
Eiweißstoffe	110,07	109,60	98,33	94,62
Asche	14,08	14,14	14,57	18,08
Extraktivstoffe, Pektine, Bitterstoffe usw.	6,86	22,96	33,01	43,48

Der Ölgehalt nimmt also fortwährend ab, der Zuckergehalt zu, weil er in den letzten drei Perioden in größerer Menge gebildet als verbraucht wird; der Stärkeanteil nimmt bis zur zweiten Periode zu, von wo an sich die Zellwandbildung besonders stark geltend macht, was auch in der Vermehrung der Zellulose zum Ausdruck kommt. Infolge der Verbrennungsvorgänge hat sich ein Materialverlust von 21,7 % ergeben. Vergleichen wir damit die Keimung der Erbse, welche ohne Zwischenbildung von Zucker erfolgt, und zwar in dem ersten Stadium nach 114 Stunden, wo das Würzelchen noch zwischen den Keimblättern eingeschlossen ist, und nach 184 Stunden, wo schon eine Entwicklung der Primordialblätter und Würzelchen zweiter Ordnung beginnt, so gelangen wir zu folgenden Zahlen, welche allerdings mit den vorhergehenden nicht direkt vergleichbar sind, da die Untersuchung in anderen Keimungsstadien vorgenommen wurde, was sich schon in dem geringeren Materialverlust ausdrückt:

In je 1000 Gewichtsteilen der bei 100° getrockneten Substanz	Ruhezustand	Keimungsperiode Erste	Keimungsperiode Zweite
Fett	22,7	22,4	20,3
Dextrin	65,0	50,3	54,1
Zucker	—	—	—
Stärke	421,1	377,8	330,0
Zellulose	71,3	78,7	81,0
Unbestimmbares	137,6	153,6	157,4
Eiweißstoffe	238,4	238,4	237,1
Asche	40,8	40,8	40,8
Verlust	—	34,9	76,2

Die Stoffumwandlung bei der Keimung der Sonnenblume wird durch folgende Zahlen erläutert, wobei 100 Gewichtsteile der Samen 88,98 Gewichtsteile der Keimpflanzen lieferten.

	In 100 Gewichtsteilen Samen	In 88,98 Gewichtsteilen Keimpflanzen
Eiweißstoffe	24,06	13,34
Nuklein und Plastin	0,96	4,05
Asparagin und Glutamin	—	3,60
Lezithin	0,44	0,71
Fett	55,32	21,82
Rohrzucker u. dgl.	3,78	13,12
Lösliche organische Säuren	0,56	2,16
Zellulose	2,54	10,25
Hemizellulosen	—	3,41

Daß bei der Atmung Wärme entwickelt wird, ist aus dem Gesagten klar; wie Molisch mit Hilfe der Dewargefäße gezeigt hat, ist die Wärmeproduktion bei der Atmung dicht zusammengelegter Blätter so hoch, daß sie auf 50 ° C über die Temperatur der Umgebung steigen und Äther mit Leichtigkeit zum Sieden gebracht werden kann. Nach den Versuchen von Bonnier wurden bei der Keimung von 1 kg Erbsensamen in der Minute folgende Wärmemengen in Kalorien produziert:

1. Gequollene Samen 9
2. Junge Keimpflanzen (Wurzellänge 5 mm) 125
3. „ „ („ 50—60 mm) 75
4. „ „ (ein grüner Stengel von 20 mm) 60
5. „ „ (die Kotyledonen schrumpfen ein) 22
6. Die Pflanze erhält nichts von den Kotyledonen 6

Hier zeigt sich, daß die Produktion von Wärme der Wachstumskurve nicht parallel geht, sondern gerade dort einen beträchtlichen Abfall zeigt, wo man infolge starker Neubildungen einen besonders großen Aufwand von Energie erwarten sollte, ein Fingerzeig dafür, daß ein Teil der durch Verbrennungen erzeugten Energie nicht als Wärme, sondern in der mechanischen Arbeit des Zuwachses zum Ausdruck kommt. Die maximale Wärmemenge wird zu Beginn der Keimung erzeugt; die auf Grund des Gaswechsels berechneten Wärmemengen bleiben aber anderseits unter den wirklich gefundenen zurück, es wird also in bestimmten Keimungsstadien wieder bedeutend mehr Wärme produziert, namentlich in den ersten Keimungsstadien, wo exotherme

Vorgänge, Hydrolyse von Stärke und Eiweißstoffen in großem Maßstabe stattfinden. Die größte Wärmeproduktion erfolgt in derjenigen Keimungsperiode, wo der Atmungsquotient ein Minimum erreicht, die Sauerstoffaufnahme also ein Maximum.

Wärmeproduktion von 1 kg Gerste in 1 Minute	Wärmemenge gefunden	in Kalorien berechnet	$\frac{CO_2}{O_2}$
1. Gequollene Samen	5	3	1,00
2. Anlage von Wurzeln	62	45	0,65
3. Hauptwurzel von 3 mm	40	31	0,80
4. Ende der Keimung.	15	12	0,95
5. Erwachsene, beblätterte Stengelteile	0	3	1,00

Bei der Verbrennung des organischen Materials entsteht nicht nur CO_2 sondern auch H_2O. Wasserbestimmungen bei der Atmung wurden von Laskovsky ausgeführt, der fand, daß im ersten Keimungsstadium sehr wenig, vielleicht gar kein Wasser gebildet wird, und zwar um so weniger, je höher die Temperatur ist. Diese auffallende Tatsache, welche sich mit der gerade in den ersten Keimungsstadien höchsten Intensität der Verbrennungsvorgänge nur schwer in Einklang bringen ließ, wurde erst durch den von Palladin geführten Nachweis erklärlich, daß bei der Atmung eine Assimilation von Wasser stattfindet, worauf aber hier nicht näher eingegangen werden kann. Natürlich wird auch zu den gerade im Anfang in besonders ausgedehntem Maßstabe stattfindenden Hydrolysen Wasser verbraucht. Demnach stehen auch die abgeschiedenen Wasserstoff- und Kohlenstoffmengen in keinem konstanten Verhältnis zueinander. Sehr eingehend ist der Einfluß der Außentemperatur auf die Atmung studiert. Im wesentlichen ist die Atmungsenergie den Wärmegraden beinahe proportional (Wolkoff und Mayer maßen die Sauerstoffaufnahme der Keimpflanzen). Innerhalb der Grenzen des Lebens entspricht die Zunahme der Atmungsintensität mit Zunahme der Temperatur der RGT-Regel, nach welcher bei Steigerung der Temperatur um je 10° sich die Intensität des Vorganges verdoppelt bis verdreifacht. Die folgende Tabelle gibt nach den Versuchen von Clausen die Kohlensäuremengen in Milligrammen, welche bei verschiedenen Temperaturen von 100 g Lupinenkeimlingen, Weizenkeimlingen und Syringablüten in einer Stunde abgegeben werden, und die Quotienten der Mengen, die einem Temperaturintervall von 10° entsprechen:

Temperatur	Lupinenkeime	Weizenkeime	Syringablüten	Koeffizienten
0°	7,27	10,14	11,60	2,5, 2,8, 2,5
10°	18,11	28,95	30,00	
20°	43,55	61,80	78,85	2,4, 2,1, 2,6
30°	85,00	100,76	108,00	
40°	115,90	109,90	176,10	
50°	46,20	63,90	152,80	2,5, 1,7, 1,1

Im Mittel findet also hier eine Steigerung des Stoffwechsels um das 2,5 fache statt, wobei man noch zu bedenken hat, daß es sich hier um ein kompliziertes System von ineinandergreifenden Vorgängen handelt.

Ähnliche Werte erhalten wir in den folgenden von Wolkoff und Mayer ermittelten Zahlen mit Keimpflanzen von Tropaeolum majus, welche folgende Atmungsintensitäten aufwiesen:

Gasvolumen ccm	Abnahme absolut ccm	Abnahme in der Stunde ccm	Temperatur	Zeit
57,07 56,33	0,74	0,53	16,2 ° C	11,35 1,05
55,62 55,36	0,26	0,78	25,4 ° „	2,10 2,30
55,11	0,25	0,75		2,50
54,85	0,26	0,76		3,10
53,98 53,31	0,67	1,00	32,8 ° „	4,00 4,40
52,99	0,32	0,96		5,00
52,22	0,77	1,03		5,45
52,08 51,22	0,88	0,52	17,8 ° „	6,30 8,10
51,06	0,16	0,48		8,30

Ein Versuch mit fünf unverletzten Keimpflanzen von Tropaeolum majus lieferte folgende Resultate:

Temperatur	Sauerstoff in der Stunde aufgenommen ccm
22,4 ° C	0,60
27,0 ° „	0,77
30,5 ° „	0,76
30,0 ° „	0,77
35,0 ° „	1,04
38,2 ° „	0,91

Dieses Verhältnis bleibt aber mit weitergehender Steigerung der Temperatur nicht konstant, sondern nimmt immer mehr ab, bis schließlich bei 40 ° C ein Maximum erreicht ist, über welches hinaus die Intensität der Atmung bis zum Tode der Pflanze nicht mehr gesteigert wird. Folgende, von Rischavi ermittelte Zahlen zeigen dies an etiolierten Weizenkeimlingen:

Temperatur	CO_2 abgegeben pro Stunde mg	Temperatur	CO_2 abgegeben pro Stunde mg
5 ° C	3,30	30 ° C	22,04
10 ° „	5,28	35 ° „	28,38
15 ° „	9,90	40 ° „	37,60
20 ° „	12,54	45 ° „	37,80
25 ° „	17,82		

Das Verhältnis $\frac{CO_2}{O_2}$ erreicht ein Minimum bei 10—15 ° und steigt sowohl bei höherer als auch bei niedrigerer Temperatur, und zwar ist in ersterem Falle die Zunahme nach Puriewitsch eine stärkere:

	Temperatur	$\frac{CO_2}{O_2}$
Sedum hybridum	2—4 °	0,45
	10—12 °	0,37
	25—26 °	0,48
Pelargonium zonale	4—5 °	0,75
	12—14 °	0,54
	34—35 °	0,95

Auch Temperaturschwankungen üben großen Einfluß auf die Intensität der Atmung. Palladin ließ etiolierte Keimsprosse der Bohne bei drei verschiedenen Temperaturen atmen; die eine Portion wurde bei 17—20 °, die andere bei 7—12 ° und die dritte bei 36—37 ° belassen. Es ergab sich aus der Bestimmung der Atmungsintensität, welche nach einiger Zeit bei mittlerer Temperatur vorgenommen wurde, daß die fortwährend bei mittlerer Temperatur belassene Portion die geringste CO_2-Menge bildete, während die vorher bei hoher und niedriger Temperatur belassenen Portionen eine intensivere Atmung zeigten.

Vorhergegangene Temperatur	CO_2-Menge bei 18—22 °	Mittel	Überschuß
mittlere (17—20 °)	54,5, 53,5, 55,0, 44,9, 58,1, 65,3, 59,8	55,8	—
niedrige (7—12 °)	89,8, 73,6, 80,2, 53,9, 78,9, 87,4, 82,9	78,1	40 %
hohe (36—37 °)	81,4, — — 89,4 — — —	85,4	53 %

Dagegen bleibt die Menge der abgegebenen Kohlensäure im wesentlichen ungeändert, wenn man die Keimlinge abwechselnd in kohlensäurefreier Luft, dann in einem Strome reinen Sauerstoffs, in normaler Luft und so fort im Turnus atmen läßt. Nach Kosinski und Palladin zeigt ferner die Konzentration der Nährlösung großen Einfluß auf die Atmungsenergie; die Übertragung aus konzentrierterer in verdünntere Nährlösung bewirkt einen Aufschwung der Atmung, umgekehrt das Versetzen in konzentriertere eine Abschwächung; 100 g etiolierte Bohnenblätter produzierten pro Stunde folgende Kohlensäuremengen:

Konzentration von Rohrzucker	Dauer d. Vegetierens auf der Zuckerlösung	CO_2 in mg	Differenz in %
15 %	3 Tage	122,7	—
25 %	3 „	79,4	— 32,5
50 %	1 Tag	69,7	— 12,2
0 % (Wasser)	1 „	154,0	+ 120,9

Kurzdauerndes Versenken der Zwiebeln von Gladiolus in Wasser steigert nach Zaleski die Atmungsenergie bedeutend. Durch Verwundung und durch Gifte findet eine starke Stimulierung der Atmungsgröße statt und Zaleski hat gezeigt, daß dies sogar bei ruhenden Gladioluszwiebeln der Fall ist. Alkaloide, Glykoside, Äther, höhere Alkohole steigern in geringen Dosen die Intensität der Atmung, während größere Mengen lähmend wirken. 300 g Kartoffelknollen schieden 1.2—2 mg CO_2 pro Stunde aus; nachdem jede Kartoffel in vier Teile zerschnitten war, wurden bei derselben Temperatur in der 2. Stunde 9 mg, in der 5. Stunde 14,4 mg, in der 10. Stunde 16,8 mg, in der

28. Stunde 18,6 mg CO_2 produziert; nach 51 Stunden 13,6 mg, nach 4 Tagen 3,2 mg, nach 6 Tagen 1,6 mg. Nach der anfänglichen durch den traumatischen Reiz hervorgerufenen Steigerung der Atmung wurde also ein Abfall konstatiert, bis am 6. Tage die Atmung der zerschnittenen Knollen das Stadium der ursprünglich unzerschnittenen erreichte.

Zur *Erkennung der von den Pflanzen* (z. B. keimenden Samen) *ausgeschiedenen Kohlensäure* haben L. und K. Linsbauer einen höchst einfachen, sich sehr gut zur Demonstration eignenden Apparat konstruiert (Fig. 98). In den nahe dem Fuße verengerten Glaszylinder werden auskeimende Samen *Sa* einer Pflanze gebracht. Das trockenturmartige Gefäß ist mit einem Pfropf luftdicht verschließbar, durch dessen Bohrung ein langes, bis fast auf den Grund *N* des Turmes reichendes Glasrohr führt. Man steckt das unterste Ende desselben durch ein Stück Papier und setzt den Pfropf in den Hals des Gefäßes, so daß zwischen Kork und Hals noch Raum zum Einwerfen der angekeimten Samen bleibt. Beim Auffallen der Samen auf das Papier verschließt dieses die Einschnürung, welche zwischen dem oberen und dem unteren Teile des Trockenturmes vorhanden ist, so daß die Samen nicht in diese untere Partie hineingelangen können. Sollte dies doch geschehen sein, so kann man sie mittels eines spitzen Drahtes bei der seitlichen Öffnung des Trockenturmes, welche während des Versuches luftdicht verschlossen bleiben muß, entfernen. Ist der obere zylindrische Raum etwa zu drei Vierteln mit den Samen gefüllt, so setzt man nun den Pfropf fest in den Hals ein. Die Samen produzieren Kohlensäure, welches sich als spezifisch schweres Gas im unteren Teile des Zylinders ansammelt; zu seinem Nachweise bedient man sich der Nilblaubase. Man gießt in die Glaskugel *K* bei verschlossenem Hahn die Lösung der Niblaubase ein und steckt in die obere Kugelöffnung ein Natronkalkrohr, welches die Kohlensäure der durchstreifenden Außenluft absorpiert. Läßt man nach 6 Stunden oder später Nilblaubase in den unteren Teil des Gefäßes abfließen, wobei der untere Pfropfen gelüftet wird, so färbt sie sich sofort blau, da der Farbstoff die Eigenschaft hat, in wässeriger Lösung, in welcher wir ihn in den Apparat einfüllen, rot zu sein und sich bei Zutritt von Kohlensäure blau zu färben.

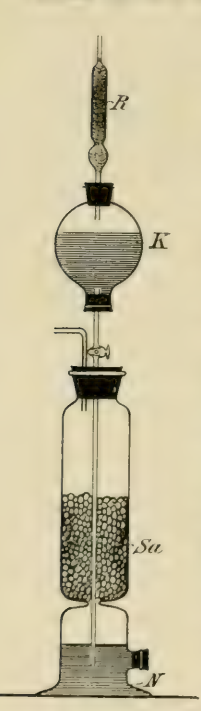


Fig. 98. Linsbauers Apparat zum Nachweise der Atmungskohlensäure.

Mit Topfpflanzen arbeitet man unter einer auf einer Glasplatte aufgeschliffenen und mit Vaseline gut gedichteten Glocke, unter welche nebst der Pflanze ein Schälchen mit klarem Barytwasser gestellt wird, während sich in einem Parallelversuch dieselbe Versuchsanstellung ohne Pflanze befindet. Das Barytwasser trübt sich in der Glocke mit der Pflanze infolge Bildung von $BaCO_3$ viel schneller als im Parallelversuch; natürlich muß durch Verdunkelung der Glocke eine Wiederverwendung der Atmungskohlensäure im Assimilationswege ausgeschlossen werden. Man kann übrigens die ausgeschiedene Kohlensäure schon erkennen, wenn man einen Halbliterkolben zu einem Drittel seiner Höhe mit Äskulusknospen oder mit angekeimten Samen füllt und in den verschlossenen Kolben, der 24 Stunden in einem warmen Raum

gestanden hat, nach dem Öffnen des Stöpsels einen brennenden Holzspan durch den Hals einführt, welcher sofort verlöschen wird. Man nimmt einen gewöhnlichen Absaugekolben nach Büchner und befestigt an das Ansatzrohr desselben mittels eines dicken Stückchens Kautschukschlauch eine enge, gebogene Glasröhre, welche mit ihrem senkrechten Schenkel in Quecksilber taucht. Auf den Boden des Kolbens, dessen Mündung später luftdicht mit einem Stöpsel verschlossen wird, wird ein feuchtes Filtrierpapier ausgebreitet und dieses mit Weizenkörnern bedeckt. Getreide keimt nach 24 stündigem Anquellen und 24 stündigem Aufbewahren in einem warmen, feuchten Raum vor dem Versuch auch im Winter befriedigend. In den Kolben kommt ferner eine Eprouvette oder besser ein kleiner flacher Napf mit konzentrierter (2 KOH : 3 H_2O) Kalilauge. Die entwickelte Kohlensäure wird von der Lauge absorbiert, der zur Kohlensäureproduktion verbrauchte Sauerstoff ist aus der Kolbenluft verschwunden und so wird das Quecksilber im Glasrohre emporsteigen. Es ist jedoch notwendig, vor Beginn des Versuches die Luft im Kolben zu erwärmen, bevor das offene Ende der Glasröhre in das Quecksilber eingetaucht wird, so daß das Quecksilber, wenn die Luft wieder erkaltet, im Glasrohr ein wenig emporgezogen wird, so daß ein bestimmter Stand des Quecksilbers als Nullpunkt für die Bestimmung dient. Man kann zu diesem Zweck den Kolben einige Minuten in 40 ^{0} warmes Wasser einstellen oder einfach die Handwärme dazu benutzen. Sollte das Quecksilber innerhalb sechs Stunden nicht steigen, so ist die Einpassung des Stöpsels daran schuld, welcher dort, wo er ins Glas eingepreßt ist, zweckmäßig mit einer Mischung von 15 Teilen Harz, 35 Teilen Bienenwachs und 50 Teilen Vaseline (Wachs und Vaseline werden gut vermischt und das feingepulverte Harz allmählich unter starkem Rühren zugefügt) gedichtet wird. Wird die Kohlensäure nicht durch Kalilauge absorbieren gelassen, so bleibt der Stand der Quecksilbersäule im großen ganzen ungeändert, entsprechend der Tatsache, daß einem aufgenommenen Volumen Sauerstoff ein gleich großes Volumen ausgeschiedener Kohlensäure entspricht.

Zum *Zwecke der quantitativen Bestimmung der ausgeschiedenen Kohlensäure* läßt man die Kohlensäure von Kalk- oder Barytwasser absorbieren und wägt nach dem Abfiltrieren entweder das gebildete Erdalkalikarbonat oder man mißt besser (da durch Kohlensäureüberschuß wieder ein Teil des Karbonates aufgelöst werden kann, wenn das Kalk- oder Barytwasser nicht in starkem Überschuß vorhanden ist) die Gewichtszunahme der in einem Geißlerschen oder Liebigschen Apparat befindlichen Kalilauge (von diesen Apparaten, welche bekanntlich bei der organischen Elementaranalyse zu demselben Zweck Verwendung finden, existieren zahlreiche, sehr praktische Modifikationen; das Prinzip ist stets, die durchfließende Kohlensäure einen möglichst langen Weg durchlaufen zu lassen, um ihre Absorption möglichst vollständig zu gestalten). Gute Dienste leisten die Pettenkoferschen Röhren, denen Cl. Winkler eine handlichere Form gegeben hat (Fig. 99). Es sind ziemlich weite, dickwandige, in einem Winkel von 130 Grad gebogene, 130 cm lange Glasröhren, deren kürzerer Schenkel 10 cm, deren längerer 120 cm mißt, die Breite der Röhren beträgt 14 mm. Man füllt die Röhren mit titriertem Barytwasser und befestigt sie in geneigter Lage; ist die Röhre genügend lang und etwa zur Hälfte gefüllt, so kann man einerseits der vollkommenen Absorption der Kohlensäure, anderseits der

Vermeidung des Überfließens der Lauge bei noch so schnellem Durchgang von Gas sicher sein. Die mittels einer Wasserstrahlluftpumpe durchgesaugte Luft passiert ein Natronkalkgefäß, wo die Kohlensäure der Luft zurückgehalten wird, und gelangt nun in das mit den Pflanzen beschickte Kulturgefäß, respektive in die Glocken, unter welchen sich die Pflanzen befinden, respektive wird durch eine bis auf den Boden der Glocke reichende Glasröhre eingeführt, um dieselbe durch ein kurzes,

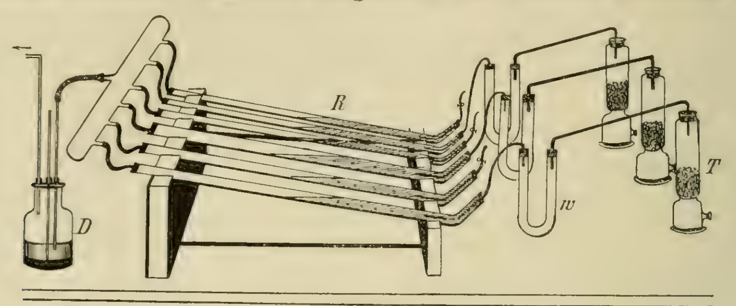


Fig. 99. Pettenkofersche Röhren.

knapp unterhalb des Glockenverschlusses endigendes Rohr zu verlassen. Damit das Gas die Pettenkoferschen Röhren in möglichst kleinen Bläschen durchzieht, bringt man an das Ende des Zuleitungsrohres, mittels welchen durch einen Kautschukstöpsel die Röhren mit dem Pflanzenrezipienten verbunden sind, mit Hilfe eines Gummischlauches eine ausgezogene Glasröhre an. Da behufs vollkommener Absorption das Durchstreichen des Gases langsam erfolgen soll, kann man an dem Kautschukschlauch noch eine Klemmschraube anbringen, durch deren festere oder lockerere Stellung die Gaszuleitung reguliert werden kann. Die Pettenkoferschen Röhren R montiert man auf einem Holzgestell, das aus zwei senkrechten, miteinander verbundenen Platten besteht. Die vordere Platte ist 15 cm, die hintere 24 cm hoch. Beide Platten sind mit Rinnen versehen, die mit Tuch belegt sind; in diese Rinnen legt man die Röhren und befestigt sie mit hölzernen Schraubenhaltern. Jedes Holzgestell ist für sechs Röhren berechnet; das rückwärtige Ende jeder Pettenkoferschen Röhre verbindet man mit einer der Ansatzröhren eines weiteren Glasrohres: dieses Sammelrohr hat sechs Zuleitungsröhren und ein Ableitungsrohr, das direkt zur Luftpumpe geführt werden

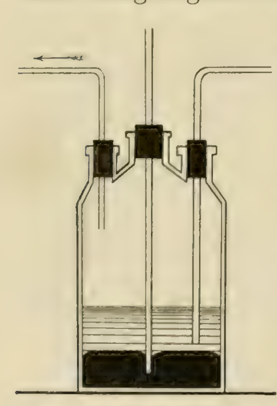


Fig. 100. Druckregulator nach Palladin.

kann. Da aber durch eine gutziehende Pumpe viel mehr Luft herausgezogen wurde, als in Form von Kohlensäure durch die Pettenkoferschen Röhren geliefert wird, mußte sich im Apparate bald eine Luftverdünnung ergeben, die man mit Hilfe eines von Palladin angegebenen Regulators D vermeidet. Man gießt in eine dreihalsige Wulffsche Flasche (Fig. 100) eine zirka 2 cm hohe Quecksilberschicht, darauf eine ebenso hohe Wasserschicht hinein. In die eine der beiden äußeren Öffnungen der Flasche führt man mittels eines durchbohrten Kautschukstöpsels das aus den Pettenkoferschen Röhren heraus-

führende Glasrohr ein und versenkt es 1 cm in das Wasser; in die andere äußere Öffnung der Flasche steckt man das Ableitungsrohr, in die mittlere Öffnung ein gerades Glasrohr, dessen unteres Ende 1 cm weit in die Quecksilberschicht gesteckt ist. Bei Anwendung dieser Einrichtung kann die Luftverdünnung im Apparat höchstens 1 cm Quecksilberdruck betragen, denn wird die Gasdurchleitung verlangsamt oder vollständig eingestellt, so wird die der Luftpumpe fehlende Luft von außen durch das mittlere Rohr des Regulators zugeführt. Eine jede der Pettenkoferschen Röhren beschickt man mit 100 ccm Barytwasser. Zunächst wird im kurzen Schenkel das Gaszuleitungsrohr befestigt das man an einem durch Schraubenquetschhahn fest verschlossenen Kautschukschlauch anschließt; dann gießt man in eine größere Flasche die Barytlösung und läßt aus dieser mittels einer Bürette eine abgemessene Menge in das offene Ende der Pettenkoferschen Röhre einfließen, wobei man die Röhre geneigt hält. Dann wird das gefüllte Rohr auf dem Gestell befestigt und möglichst rasch durch den Kautschukstöpsel mit dem Sammelrohr verbunden, an dem sich schon der Kautschukschlauch samt Glasröhre zum Anschluß an den Stöpsel befindet. Zur Herstellung des Barytwassers löst man 7 g kristallisiertes Bariumhydroxyd in 1000 ccm destillierten Wassers; wird aber der Versuch auf längere Zeit ausgedehnt, sind also die aufzufangenden Mengen Kohlensäure groß, so können auch 14 g oder 21 g genommen und auf je 1 Liter Barytwasser 1 g Bariumchlorid zugefügt werden. Nachdem der Apparat instand gesetzt worden ist, werden die Pflanzen in die Rezipienten oder Kulturglocken eingeführt. Verwendet man große Glocken, so ist es zweckmäßig, entweder die Luft vorher auszupumpen, was aber wegen des durch Saugung veranlaßten Zurücksteigens des Barytwassers beim Verbinden der Glocken mit diesem, wenn man nicht rechtzeitig die Pumpe in Tätigkeit setzt, Unannehmlichkeiten veranlassen kann, oder genügend lange kohlensäurefreie Luft durchzuleiten, welche man ja ohnehin zur Ausführung der Bestimmung durch das System durchleiten muß. Die Luft passiert zu diesem Zweck zunächst, bevor sie zu den Pflanzen gelangt, einen Turm oder U-Röhren *w*, teils mit Natronkalk, teils mit Ätzkali gefüllt. An je einem Rezipienten *T* sind zwei Pettenkofersche Röhren angeschaltet. Der Apparat wird folgendermaßen in Tätigkeit gesetzt: Zunächst läßt man die Wasserstrahlpumpe laufen das Luftsaugen erfolgt durch das mittlere Rohr des Regulators. Dann öffnet man den Quetschhahn am Pettenkoferschen Rohr an dem der Pumpe zugekehrten Ende und lockert dann auch den Quetschhahn des dem Pflanzenrezipienten benachbarten Endes der Röhre; mit Hilfe dieses Quetschhahnes wird, wie schon erwähnt, die Gasdurchleitung geregelt. Nach einiger Zeit stellt man die Absaugung ein und setzt die andere der beiden Parallelröhren in Betrieb. Zu diesem Zweck sperrt man erst den rückwärtigen, dann den vorderen Quetschhahn des ersten Rohres und zieht den das Rohr mit dem Rezipienten verbindenden Gummischlauch aus der Ableitungsröhre des Rezipienten heraus; letztere wird dann in den Gummischlauch des zweiten Pettenkoferschen Rohres eingeführt und das Rohr wieder auf dieselbe Weise wie früher in Betrieb gesetzt. Das ausgeschaltete Rohr ersetzt man durch ein anderes, das man frisch mit Barytwasser beschickt hat, und kann so unter beständigem Röhrenwechsel unbegrenzt lange Zeit arbeiten. Das aus-

geschaltete Pettenkofersche Rohr entleert man nach Umschütteln ohne zu viel Luftzutritt in eine 150 ccm fassende Flasche mit eingeschliffenem und mit Vaseline gedichtetem Stöpsel. Die Röhre wird dabei quantitativ mit Wasser abgespült und der Niederschlag in der Flasche mehrere Stunden sich selbst überlassen, damit er sich ordentlich absetzt. Seine Menge kann nun in üblicher Weise gravimetrisch oder besser maßanalytisch mit Oxalsäure bestimmt werden. Man stellt eine Lösung von 2,8636 g reiner, umkristallisierter Oxalsäure in 1000 ccm Wasser her; 1 ccm dieser Lösung entspricht 1 mg Kohlensäure. Für die Titration mißt man 25 ccm vollkommen klar gewordener Barytwasserlösung mit einer Pipette ab und titriert mit der Oxalsäure gegen Phenolphthalein. Nachdem man die Menge der vom Baryt gebundenen Oxalsäure ermittelt hat, multipliziert man die Anzahl der gefundenen Kubikzentimeter mit 4, womit man direkt die Menge der während der Versuchszeit gebildeten Kohlensäure in Milligrammen bestimmt hat. *Für eine größere Zahl hintereinander durchzuführender Titrationen* leistet Maximows automatische Pipette (Fig. 101) gute Dienste. Eine dreihalsige, unten mit einem Tubus für den Ablauf versehene, 2—3 Liter fassende Flasche *M* wird mit verdünnter Natronlauge gefüllt, die eine der beiden oberen Öffnungen trägt ein doppelt gebogenes Glasrohr, an das mittels eines Kautschukschlauches mit Quetschhahn eine Pipette *P* angesetzt ist, in die andere führt man ein mit Quetschhahn versehenes Rohr, in die mittlere einen zum Eingießen der Lösung dienenden, mit eingeschliffenem Hahn versehenen Trichter *Tr*. Beim Öffnen des Ablaufes des bis zum obersten Rande mit der Lauge gefüllten Gefäßes fließt die Flüssigkeit heraus und durch die Luftverdünnung wird von außen Barytlösung in die Pipette aufgezogen. Man schließt dann den Ablauf und öffnet eine der oberen Röhren, worauf die Barytlösung in den Titrationskolben abläuft. Die in der Flasche und der Pipette befindliche Luft ist infolge der Lauge in der Flasche vollkommen kohlensäurefrei und die Bestimmung jedenfalls einwandfreier, als wenn man mit dem Munde angesaugt hätte. Bei keimenden Samen ist ein vorheriges Durchleiten kohlensäurefreier Luft unnötig, wenn man dafür sorgt, daß der Rezipient fast vollkommen mit dem Pflanzenmaterial gefüllt ist; man bedient sich da der U-Röhren oder Chlorkalziumzylinder. Für die *Bestimmung der Atmung von Ober- und Unterseite eines Blattes* hat F. Blackmann eine Atmungskammer (Fig. 102 und 103) konstruiert, die aus zwei Messingringen *K* besteht, denen an der einen Seite Glasplatten angeklebt, seitlich aber je zwei Kupferröhren aufgepaßt sind. Eine jede Kammer ist 5 mm tief, ihr Durchmesser beträgt 36 mm. Zwischen den Kammern wird das zu untersuchende Blatt *B* befestigt und mit Wachs festgemacht. Die Luft dringt durch das eine Rohr *R* ein und verläßt das System durch das andere Rohr R_1; für schmale Blätter werden entsprechende längliche Kammern verwendet. Die Kohlensäure wird ebenso absorbiert wie oben.

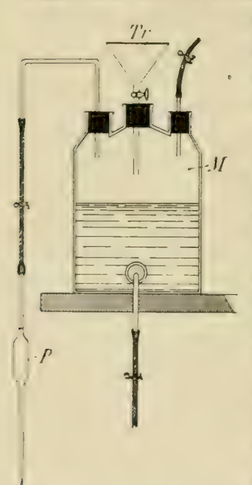


Fig. 101. Maximows automatische Pipette.

Die Pettenkoferschen Röhren, mittels deren sehr genaue

Resultate erzielt werden, können dort, wo es sich um Bewältigung großer Kohlensäuremengen handelt, und wo ein rascher Wechsel der Absorptionsgefäße nicht tunlich ist, durch Kaliapparate ersetzt werden, die zu zwei Dritteln mit starker Kalilauge beschickt und mit einem angeschmolzenen, mit Chlorkalzium gefüllten Rohre versehen werden, um das aus dem Kaliapparat verdunstende Wasser aufzunehmen; zweckmäßig ist es, die Hälfte des Rohres statt mit $CaCl_2$ noch mit festen Kalistücken zu füllen, um einem Verluste an Kohlensäure absolut vorzubeugen. Die Kalilauge im Apparat ist solange zu benutzen, bis infolge übermäßiger Bildung von Kalikarbonat durch sehr lange Zeit fortgesetzte Versuche Verstopfung der Röhren eintreten kann. Vor den Kaliapparat, also in diesem Fall zwischen Pflanzenrezipienten und Absorptionsgefäß, wird noch ein mit Chlorkalzium gefüllter Trockenturm und eine mit Schwefelsäure gefüllte Waschflasche geschaltet, weil das vom Wasser befreite Kohlendioxyd von den Absorbentien viel vollkommener aufgenommen wird. Chlorkalzium allein ist als Trocknungsmittel in der Regel unzulänglich; durch das Chlorkalzium muß vorher einige Zeit ein Strom von Kohlendioxyd durchgeleitet werden, um den immer beigemischten Natronkalk zu sättigen. Sämtliche Teile des Apparates verbindet man durch dickwandige Gummischläuche. Durch die angebrachten Quetschhähne ist auch hier einerseits eine leichte Regulierung des Gasstromes, anderseits die Möglichkeit gegeben, die Kaliapparate ohne Verlust an Kohlensäure auszutauschen, wobei man durch den Druckregulator den Vorteil genießt, die Pumpe beim Wechseln nicht abstellen zu müssen (wodurch sonst leicht ein Zurücksaugen von Wasser aus der Pumpe in den Apparat sich ergeben könnte), da während der Inaktivität der Kaliapparate Außenluft durch den Druckregulator eingesaugt wird, die Pumpe also einen Angriffspunkt hat. Ebenso wie man nach dem Durchleiten der Sättigungskohlensäure durch den Chlorkalziumturm die Kohlensäure vor dem Versuch mittels Durchleitens von Luft verdrängen muß, so leitet man, um die Absorption der Kohlensäure, welche nach dem Versuch noch in dem Apparat steht, zu verhindern, einen Strom von trockenem Wasserstoff durch, der aber vor der Wägung durch Luft verdrängt werden muß, damit die Wägung beide Male unter den gleichen Bedingungen vor sich gehe.

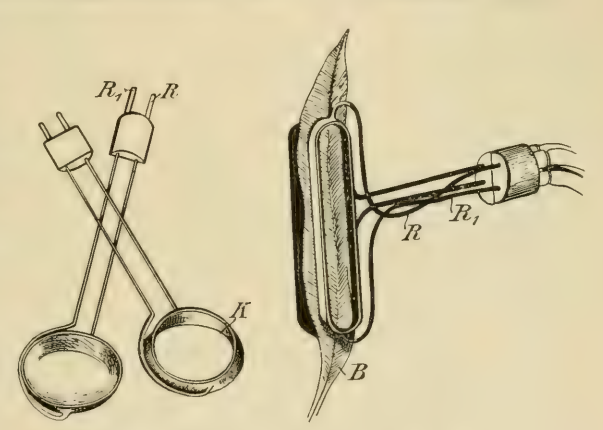


Fig. 102. Fig. 103.
Atmungskammer nach Blackmann.

Sachs benutzt folgenden *einfachen Apparat* (Fig. 104). Die beiden Flaschen *f* und *g* dienen als Aspirator, indem das Wasser von *f* nach *g* durch *x* hinabfließt, wobei natürlich die Luft, welche rechts bei *z* eintritt, durch die verschiedenen Gefäße des Apparates strömen muß. Sie wird zunächst in dem Gefäß *a*, welches mit Kalilauge getränkten Bimsstein enthält, von der kleinen Menge atmosphärischer Kohlensäure befreit: daß

dies vollständig geschehen ist, beweist das Klarbleiben des Kalkwassers in der Flasche *b*. Die Luft kommt also völlig kohlensäurefrei in den Rezipienten *C*. In diesem befindet sich eine mit weitmaschigem Organtin überzogene Kristallisierschale, auf dem sich die angekeimten Samen befinden, deren Atmung bestimmt werden soll und die ihre Würzelchen in die Nährlösung in der Kristallisierschale einsenken. Die Glocke *C* ist luftdicht auf der Glasplatte *K* befestigt. Die mit Atmungskohlensäure beladene Luft strömt durch die beiden Flaschen *d* und *e*, in denen Kalkwasser enthalten ist; die Kohlensäure wird schon in *d* fast vollständig absorbiert, d. h. es bildet sich ein weißer Niederschlag von $CaCO_3$ und in der zweiten Flasche *e* entsteht, wenn die Luft vorschriftsmäßig langsam durchströmt, kaum noch eine Fällung. Sollte dies trotzdem der Fall sein, so muß noch eine dritte Flasche angeschaltet werden. Man kann natürlich auch hier sowohl die beiden Gefäße *a*, *b*, als auch die Flaschen *d*, *e* durch Kaliapparate ersetzen; Hauptsache ist, daß den Pflanzen beständig neue sauerstoffhaltige Luft zugeführt und die gebildete Kohlensäure entfernt wird, so daß die Pflanzen in einer normalen Atmosphäre atmen können, und daß man durch Wägung, respektive maßanalytische Bestimmung des abfiltrierten oder abgesetzten Kalziumkarbonates und Umrechnung auf Kohlensäure in der Lage ist, die Atmungsgröße zeitweise zu bestimmen, ohne daß die Pflanze selbst dabei gestört wird. Was nun die Quantität der von einer bestimmten Menge Pflanzensubstanz in bestimmten Zeiten abgegebenen Kohlensäure anlangt, so geben zwölf Knospen von Syringa vulgaris (Trockensubstanz 2 g) in 24 Stunden 70 ccm CO_2 ab, fünf Knospen von Aesculus makrostachya (Trockensubstanz 0,85 g) 45 ccm, Keimpflanzen von Papaver somniferum (Trockensubstanz 0,45 g) 55 ccm, Keimpflanzen von Sinapis nigra (Trockensubstanz 0,55 g) 32 ccm ab. Die Mengen der ausgeatmeten Kohlensäure sind also relativ groß im Vergleich zu dem Trockengewicht. Oberflächliche quantitative Schätzungen können folgendermaßen rasch durchgeführt werden. 21 g kristallisiertes Bariumhydroxyd werden mit 1000 ccm destillierten Wassers geschüttelt und 12 Stunden in verschlossener Flasche stehengelassen oder so lange, bis es größtenteils gelöst ist. Dann wird in eine gut verschließbare Flasche abfiltriert. Vor dem Versuch werden 50 ccm dieser Lösung in die unmittelbar hinter dem Rezipienten mit den Pflanzenteilen angeschaltete Waschflasche und eine weitere Quantität in den darauf folgenden Absaugekolben getan. Wenn am Schluß des Versuches eine beträchtliche Menge von $BaCO_3$-Niederschlag in der Waschflasche sich gebildet hat, werden 20 ccm der Flüssigkeit aus der Waschflasche abpipettiert (die Flüssigkeit muß für diese Bestimmung nicht ganz klar

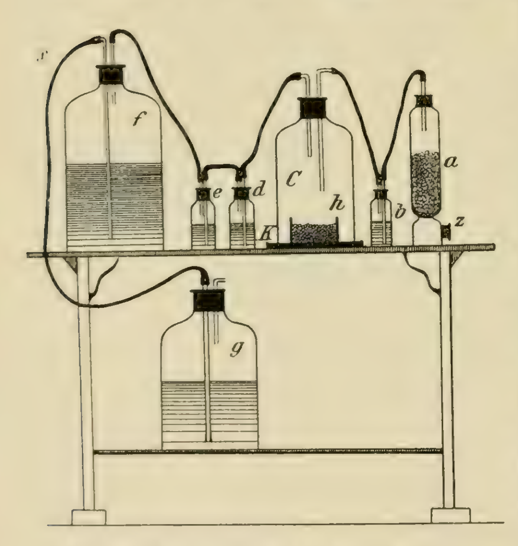
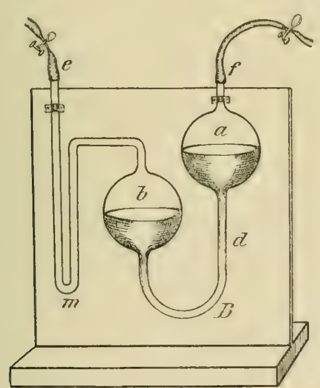


Fig. 104. Apparat von Sachs zur Bestimmung der Atmungskohlensäure.

sein, da sehr verdünnte Salzsäure auf $BaCO_3$ kaum einwirkt) und rasch mit $\frac{n}{10}$ HCl gegen Phenolphthalein titriert und 20 ccm der Originalbarytlösung mit den erhaltenen Zahlen titrimetrisch verglichen. Die Differenz zwischen den in den beiden Proben verbrauchten Salzsäuremengen gibt ein Maß für die Barytquantität, die aus je 20 ccm der Flüssigkeit durch die eingeleitete Kohlensäure zum Verschwinden gebracht worden ist; der ganze Betrag der während des Versuches gebildeten CO_2 ist natürlich $2\frac{1}{2}$ mal größer und kann schnell aus folgender Relation berechnet werden: 1 ccm $\frac{n}{10}$ HCl $= 2{,}2$ mg $CO_2 = 1{,}19$ ccm CO_2 bei 15^{0} C.

Durch den Apparat von Winkler-Hempel kann das *Kohlensäurevolumen, welches in einer bestimmten Zeit durch Atmung abgegeben wurde, ebenfalls grob bestimmt werden.* Um verläßliche Werte zu erhalten, ist es hier immerhin notwendig, mit größeren Mengen Pflanzensubstanz zu arbeiten, z. B. mit 200



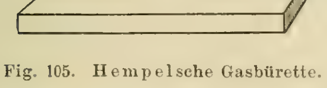


Fig. 105. Hempelsche Gasbürette.

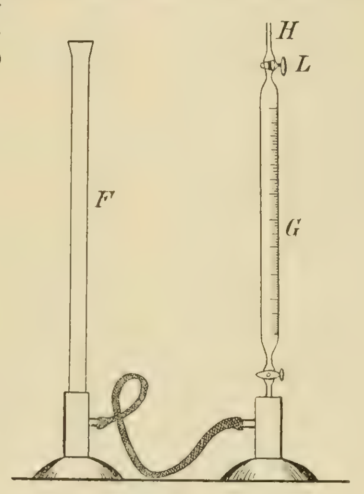


Fig. 106. Timiriazeffs Eudiometer.

keimenden Erbsen; dieselben werden in einen Kolben von 400 bis 500 ccm Inhalt gebracht, der durch einen Stöpsel gut verschlossen wird. Nach 1—2 Stunden wird eine Probe des Gases abgezogen, etwa durch die Apparatur in Fig. 45 auf pag. 113 in welcher in dem Maßstabe, als das Gas abgezogen wird, Wasser aus *o* nach *i* strömt. Der hier angegebene Apparat ist ursprünglich für Assimilationsversuche gemacht, wo mehrere Bestimmungen der CO_2 in dem Gefäße *J* zu machen sind. Für den hier besprochenen Fall der Atmungsbestimmung wird die Eprouvette *i* weggelassen und das Wasser fließt direkt auf den Boden des Zylinders. So kann nur eine Gasprobe genau bestimmt werden, da das in den Zylinder eingedrungene Wasser Kohlensäure absorbiert, aber man kann, wenn zwei Bestimmungen sehr schnell aufeinanderfolgen, auch noch eine zweite Gasprobe messen. Da die Eprouvette *i* herausgenommen ist, kann man den Zylinder vor der Bestimmung schütteln und so eine Anhäufung von Kohlensäure am Grunde des Gefäßes verhindern. In die Kugel *a* der Gasbürette (Fig. 105) wird die starke Kalilösung gebracht, bis ihr Stand *b* erreicht und dann

mittels Hineinblasens bei *f* die Lauge die enge Röhre *e* aufwärts gedrückt bis in den dickwandigen Kautschukschlauch, der mit ihr in Verbindung steht. Sobald die Lösung an dem offenen Ende der Röhre erscheint, wird der Quetschhahn *e* geschlossen. Die Röhren *G* und *F* der Meßbürette (Fig. 106) werden dann etwas über die Hälfte mit destilliertem Wasser gefüllt, wobei keine Luftblasen in dem verbindenden Kautschukschlauch bleiben dürfen. *F* wird dann gehoben, bis Wasser aus *H* herausdringt, dann wird der Hahn *L* geschlossen und *H* durch einen Kautschukschlauch mit dem Zylinder verbunden, der das zu analysierende Gas enthält. *F*, nunmehr wieder leer, wird gesenkt und *L* geöffnet, so daß eine Gasprobe in die Hempelsche Bürette hineingezogen wird. *L* wird jetzt geschlossen und die Verbindung von *H* ausgeschaltet. Das eingezogene Gasvolumen wird dann durch die Teilung in *G* zurückgemessen, nachdem das Wasser in beiden Röhren auf dasselbe Niveau gebracht ist. Um CO_2 zu absorbieren, wird *H* mit dem Kautschukschlauch *e* der Absorptionspipette verbunden, *F* wird gehoben und *L* sowie der Quetschhahn bei *e* geöffnet. Das Gas wird so nach *D* hinübergepreßt, wo es beiläufig eine Minute lang gehalten und in Berührung mit der Lauge sanft durchgeschüttelt wird, wobei die Klemme *e* und der Hahn *L* geschlossen bleiben. Wenn man annehmen kann, daß die Absorption des Gases vollendet ist, wird das Gas nach *G* durch Senken von *F* zurückgezogen, während *e* und *L* geöffnet sind. *L* wird dann geschlossen und *G* und *F* wieder zur Niveaugleiche gebracht, worauf die Verminderung des Gases abgelesen werden kann. Die Differenz gibt die ursprünglich vorhanden gewesene Kohlensäuremenge. Will man sicher sein, ob die Absorption vollkommen ist, kann man das Gas wieder nach *b* führen, schütteln und wieder zurückgehen lassen, wobei keine weitere Volumverminderung eintreten darf. Wenn eine Spur Lauge mit dem Gas nach *G* gekommen ist, müssen die Röhren vor einem nächsten Versuch sorgfältig gewaschen werden.

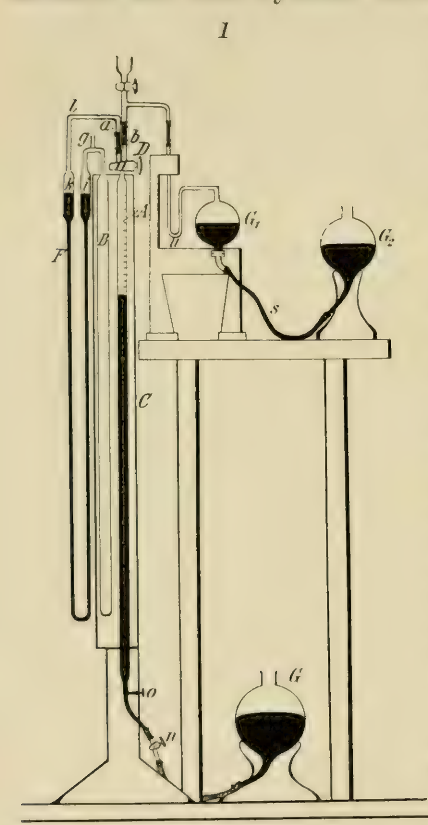


Fig. 107. Pettersons Gasbürette in Verbindung mit einer Gaspipette *uG₁ sG₂*.

Für die *genaue Analyse kleiner Gasmengen* kann man die Pettersonschen Instrumente[1]) benutzen, bei denen gleichzeitig der Fehler kompensiert ist, welchen die Druck- und Temperaturschwankungen der Atmosphäre mit sich bringen. Je nach der Größe der Gasquantitäten, die gemessen werden sollen, bedient man sich dreier verschiedener

[1]) Nach W. Hempel, l. c. p. 49.

Formen von Gasbüretten mit Temperatur- und Barometerkorrektion; in Fig. 107 und 108 zeigt *I* eine Bürette zur Messung von Gasquantitäten, deren Volumen zwischen 0,5—100 ccm schwankt; *II* gibt die Einrichtung, die man zweckmäßig benutzt, wenn das Gasvolumen etwa 150 ccm beträgt; *III* wird benutzt wenn das Gasquantum 10 ccm nicht übersteigt. Die Instrumente bestehen aus den graduierten Meßröhren *A*, den Korrektionsröhren *B*, den Manometerröhren *F* und den Niveaukugeln *G*. Meßröhren und Korrektionsrohre stecken in einem Glaszylinder *C* von passender Weite, der mit Wasser zur Erhaltung der gleichen Temperatur gefüllt ist. Die Meßröhren sind durch doppelt gebohrte Glashähne geschlossen. Die Korrektionsrohre *B* bilden mit den Manometerröhren *F* ein Stück, *g* ist eine Ansatzkapillare. Die Manometerröhren sind u-förmige Glasröhren, die sich bei *k* und *i* etwas erweitern. An diesen Erweiterungen befinden sich in gleicher Höhe angebrachte Marken. Mittels des etwa $1\frac{1}{2}$ bis 2 mm weiten Rohres *l* sind sie durch Gummistücke mit den Meßröhren verbunden. Ist die Bürette verunreinigt, dann nimmt man das Manometerrohr einfach ab und kann das übrige Instrument reinigen, ohne daß an dem im Korrektionsrohr abgeschlossenen Gasvolumen sich etwas verändern kann. Um die Apparate für den Gebrauch herzurichten, saugt man durch die Röhre *g* etwas destilliertes Wasser in die Korrektionsröhren *B* und befeuchtet die Wände der Meßröhren *A*. Man füllt ferner die Niveaukugel *G* mit Quecksilber und treibt durch Heben derselben, nachdem man die Glashähne in die Stellung *1* gebracht hat (Fig. 109), so viel Quecksilber in die Manometerröhren, daß dasselbe den Raum zwischen den Marken bei *k* und *i* erfüllt. Zur Normierung des Apparates müssen zunächst die Inhalte der Manometerröhren von Marke *k* bis *a* ermittelt werden. Das geschieht, indem man das in den Manometern befindliche Quecksilber bis nach *a* saugt, dann die Hähne *D* schließt und dann, nachdem die Hähne *D* in Stellung *2* gebracht sind, beliebig große Luftvolumina in die Büretten bringt. Man liest dann bei offenem Hahn die Größe dieser Volumina an den Skalen der Büretten ab. Hierauf dreht man die Hähne *D* so, daß die Büretten mit den Manometerröhren kommunizieren, und treibt so viel von der eingeschlossenen Luft in die Manometerröhren über, bis das Quecksilber an den Marken *k* und *i* auf beiden Seiten gleich hoch steht. Die Differenz aus der ersten und der zweiten Ablesung ergibt dann die Größe der Räume von der Marke *k* bis *a* in den Manometerröhren. Das Korrektionsrohr kann nun entweder in der Weise benutzt werden, daß man durch Abschmelzen des Rohres *g* ein beliebiges Luftvolumen zum Einschluß bringt, wie es dem gerade herrschenden Barometerstand entspricht, oder man kann den Inhalt von *B* mit gerade so viel Luft füllen, daß der Apparat immer direkt die auf 0° und 760 mm Druck reduzierten Gasvolumina angibt. Um

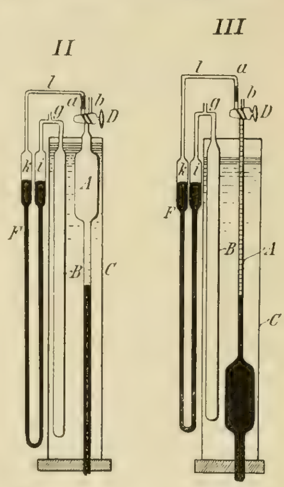


Fig. 108. Pettersons Gasbüretten (oberer Teil).

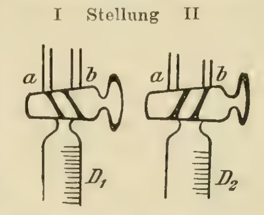


Fig. 109. Gashähne der Pettersonschen Büretten.

nun die Apparate so einzurichten, daß den Beobachtungen an den Skalen der Meßröhren A Volumina von 0 ° C und 760 mm Druck entsprechen, befestigt man am Ende der Kapillaren g ein Stück Gummischlauch mit Drahtligaturen. Durch Senken der Niveaukugeln saugt man das Quecksilber in den Manometerröhren bis in die Röhre l und stellt dann die Büretten zwei Stunden in einen gleichmäßig temperierten Raum neben Barometer und Thermometer. Die Hähne D werden geöffnet, so daß die Inhalte der Büretten frei mit der atmosphärischen Luft kommunizieren können.

Sobald ein Temperaturausgleich eingetreten ist, liest man ganz genau die Größe der Gasvolumina, der Temperatur und des Barometerstandes an den Instrumenten ab und schließt die Hähne D, worauf man die vorhandenen Gasvolumina reduziert. Das Gasvolumen betrage z. B. 97 ccm, der Barometerstand 753,3 mm, die Temperatur 8,75 ° C. Die Größe des Raumes von k bis a im Manometerrohr sei vorher mit 1,8 ccm ermittelt. Die Tension des Wasserdampfes ist 8,4 mm. Ist b = Barometerstand, t = Temperatur, e = Tension, V = beobachtetes Volumen, so ist das reduzierte Volumen $V_0 = V \frac{b - e}{760\,(1 + 0{,}00367\,t)}$, also für unser Beispiel 92,1 ccm. Da bei der Messung mit dem Korrektionsrohr das Gas den Raum von k bis a ausfüllt, muß man noch die Größe desselben = 1,8 ccm davon abziehen, daher ist V_0 = 90,3 ccm. Um das Korrektionsrohr zu normieren, stellt man den Hahn D so, daß das Meßrohr mit dem Manometerrohr kommuniziert, und drückt dann das abgemessene Gasvolumen auf die für 0 ° und 760 mm berechnete Größe zusammen. Das dadurch aus dem Gleichgewicht gebrachte Quecksilber bringt man so in die Ruhelage, daß man durch den Gummischlauch bei g so viel Luft in das Korrektionsrohr einbläst, daß das Quecksilber ins Gleichgewicht kommt, worauf dann der Schlauch g durch einen starken Quetschhahn zusammengepreßt wird; zur vollkommenen Dichtigkeit muß dann noch das Rohr g abgeschmolzen werden zu welchem Zweck man die Kautschukverbindung des Manometerrohres mit der Bürette bei a löst, hierauf das Korrektionsrohr B in eine Kältemischung von Kochsalz und Eis stellt und es so lange darin läßt, bis das Quecksilber im Manometerrohr anzeigt, daß im Innern des Korrektionsrohres ein geringerer Druck herrscht als in der äußeren Atmosphäre: dann erst erhitzt man das Rohr g, welches man zum Schutze vor Zerspringen, mit Ausnahme der Stelle, wo sie abgeschmolzen werden soll, mit wassergerührtem Gips überstreicht, dicht vor dem angesetzten Gummischlauch mit dem Gebläse und schmilzt es durch Ausziehen zu. Wird das so hergerichtete Korrektionsrohr dann wieder mit dem Meßrohr verbunden, so geben die Ablesungen direkt auf 0 ° und 760 mm reduzierte Gasvolumina, unbekümmert um die Temperatur- und Druckschwankungen, wenn man nur bei den Messungen dem Hahn D die Stellung 1 gibt und das Quecksilber im Manometerrohr durch Ausdehnen oder Zusammendrücken des im Meßrohre befindlichen Gases zur Einstellung auf die Marken in k und i bringt. Die genaue Einstellung des Instrumentes erreicht man dadurch, daß man zunächst durch Heben oder Senken der Niveaukugel G die beiden Quecksilbermenisken k und i ungefähr in gleiche Höhe bringt, hierauf den Hahn n (Fig. 107) schließt und nun durch Drehen der Druckscheibe o ein Stück Gummischlauch, welches sich zwischen dem Hahn n und dem Endstück der Bürette befindet, so in seinem Volumeninhalt ver-

ändert, bis sich die beiden Menisken in gleicher Höhe befinden. Diese Art der Einstellung gestattet sehr schnell und bequem kleine Änderungen an der Größe eines Gasvolumens vorzunehmen. Beim Zurücksaugen des gemessenen Gases aus dem Manometer in das Meßrohr läßt man zweckmäßig etwas Quecksilber mit übertreten; man führt dann das Gas in die Pipetten und läßt, sobald das Meßrohr ganz mit Quecksilber erfüllt ist, nachdem man den Zweighahn in die entsprechende Stellung gebracht hat, wieder so viel Quecksilber in das Barometerrohr zurücktreten, daß es genau sein ursprüngliches Volumen hat. Um dies ganz genau machen zu können, befestigt man am Barometerrohr ein schwaches Eisenblech als Marke, an deren unterer Kante man den Quecksilbermeniskus einvisiert.

Zur *Demonstration der Sauerstoffaufnahme* durch die Atmungschromogene gießt Palladin die Lösungen, welche die Chromogene enthalten, mit recht beträchtlichen Mengen wässeriger Alkalilösungen (auf 100 ccm Chromogenlösung werden 5 ccm oder mehr einer 50prozentigen Lösung von KOH oder 100 ccm einer gesättigten Lösung von $Ba(OH)_2$ hinzugefügt) in einen flachen Glaskolben mit breitem Boden, der ein Volumen von 420 ccm besitzt und dessen Öffnung durch einen doppelt gebohrten Gummistöpsel verschlossen ist. In der einen Öffnung steckt ein kurzes Glasrohr mit Hahn, in der andern ein enges, zweimal gebogenes Rohr, dessen mittlerer horizontaler Teil von 50 ccm Länge mit einer Millimeterskala versehen ist. Das äußere, nach unten umgebogene Ende dieser Röhre taucht in ein Gefäß mit gefärbtem Wasser und die Sauerstoffabsorption im Innern des Kolbens ist von einer Fortbewegung des gefärbten Wassers im horizontalen Abschnitt des langen Rohres begleitet. Es ist noch besser, dem horizontalen Rohre eine kaum merkliche Neigung in der Richtung nach dem Gefäße mit der Flüssigkeit zu geben: in diesem Falle strömt, nachdem das Röhrchen sich mit gefärbtem Wasser gefüllt hat, dieses letztere beim Öffnen des Hahnes wieder in das Gefäß zurück, um nach Schließen des Hahnes von neuem in dem Röhrchen aufzusteigen. Um die Sauerstoffabsorption zu beschleunigen, wird der Kolben mit der Flüssigkeit geschüttelt.

Wolkoff und Mayer benutzten zur Bestimmung der Sauerstoffabsorption einen Apparat, der im wesentlichen aus einem U-Rohr besteht, in dessen weites Gelenk die zu untersuchende Pflanze eingeführt wird; in diesem Gefäß befindet sich ein kleines Gefäß mit Kalilauge, das Ende des Rohres ist mit einem eingeschliffenen Stöpsel verschlossen, das andere, engere Rohr sperrt man mit Quecksilber. Das von der Pflanze gebildete Kohlendioxyd wird durch die Kalilauge absorbiert, und die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs ergibt sich aus der Veränderung des Quecksilberniveaus im engeren graduierten Gelenk des Apparates.

Für die *Bestimmung des absorbierten Sauerstoffs* kann der einfache Apparat von Godlewski[1]) dienen (Fig. 110), welcher gleichzeitig die ausgeschiedene Kohlensäure zu bestimmen gestattet. Ein einfacher dickwandiger Kolben A auf dem Tische T trägt dort, wo das Volumen von 400 ccm mittels Wassers aus einer Bürette genau eingestellt ist, die Marke a. In diesen Kolben werden die zu untersuchenden Samen S oder anderen

---

[1]) E. Godlewski, Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenatmung, Jahrb. f. wiss. Bot. 13, 491 (1882).

Pflanzenteile auf feuchtes Filtrierpapier gebracht und der Kolben mit einem gut schließenden, doppelt durchbohrten Stöpsel verschlossen, durch dessen Bohrungen einerseits die kürzere, rechtwinklig gebogene Röhre *b* zieht, welche an ihrem äußeren Ende ausgezogen und zugeschmolzen ist, während die andere Röhre *e* doppelt rechtwinklig gebogen ist und in das Quecksilber im Gefäße *n* taucht. Der äußere Schenkel dieser Röhre ist kalibriert und mit einer Millimeterskala versehen. *b* besitzt im Innern des Kolbens ein Häkchen zur Aufnahme einer kleinen Eprouvette *g*, in der sich eine abgemessene Menge starker Kalilauge befindet. Für das Gelingen des Versuches ist ein absolut luftdichter Abschluß des Apparates erforderlich. Der Kork muß gut, aber nur 13—15 mm hoch sein, er wird bis zur Marke *a* in den Hals des Kolbens eingepreßt, so daß der Glashals desselben noch etwa 10 mm über die Oberfläche des Korkes hinausragt, und in diesen Teil des Kolbenhalses gießt man eine 6—8 mm hohe Schicht Quecksilber und auf diese noch etwas Wasser.

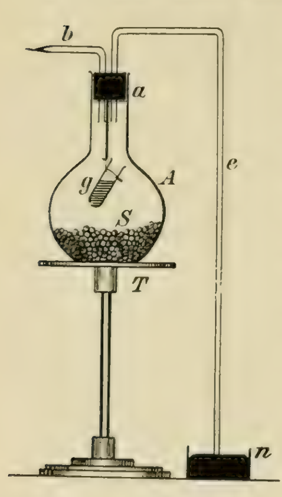


Fig. 110. Godlewskis Apparat.

Um das richtige Luftvolumen für die atmenden Pflanzenteile zu erhalten, muß man zu dem Volumen des Kolbens *A* den Inhalt der Röhre *b* bis zum Strich *a* und der Röhre *e* bis zum Quecksilberniveau addieren, dagegen das Volumen sämtlicher im Apparate enthaltenen Objekte subtrahieren. Eine genaue Ablesung des Quecksilberstandes in der Röhre *e* ist nur dann möglich, wenn derselbe höher liegt als das Quecksilberniveau im Gefäße *n*; man erreicht ein Steigen der Quecksilbersäule, indem man den Kolben vor dem Eintauchen des Rohres erwärmt, ins Quecksilber versenkt und nun abkühlen läßt; es entsteht eine kleine Luftverdünnung, die das Quecksilber emportreibt, worauf sein Stand vor Beginn des Versuches markiert wird. Das korrigierte Luftvolumen berechnet man nach der Formel: $lg\ v = lg\ v^1 + lg\ (b - b' - b'') - lg\ (1 + 0\ 00366\ t)$, worin die Reduktion auf Temperatur, Barometerstand und Trockensubstanz enthalten ist. Man wartet nun vor der Volumenablesung eine halbe Stunde, damit der Apparat die Temperatur der Umgebung annehmen kann. Sobald von den Samen Sauerstoff aufgenommen und Kohlensäure abgegeben wird, findet die Absorption der letzteren durch die Lauge statt, das Volumen der Luft im Apparat wird daher vermindert, und das Quecksilber fängt an, in der Röhre *e* zu steigen, und sein Stand wird zuzeiten unter Berücksichtigung von Temperatur und Barometerstand abgelesen und aus der Luftverminderung der Betrag des eingeatmeten Sauerstoffs bestimmt. Die absorbierte Kohlensäure ist in der Eprouvette als kohlensaures Kali in Lösung. Zu ihrer Bestimmung wird die ausgezogene, zugeschmolzene Spitze der Röhre *b* abgebrochen, der Apparat geöffnet und der Inhalt von *g* in einen kleinen Kolben gegossen, mit Wasser verdünnt und die Kohlensäure mit $BaCl_2$ ausgefällt. Der Niederschlag wird normalerweise gravimetrisch weiter behandelt, also abfiltriert, mit ammoniakalischem, von Ammonkarbonat freiem Wasser gewaschen, getrocknet, geglüht und aus dem Gewichte des $BaCO_3$ die Menge der Kohlensäure berechnet, die man schließlich auf Druck und Temperatur reduziert. Da das käufliche Kali stets etwas

Kalikarbonat enthält, wird dessen Menge vorher im Reagens gravimetrisch festgestellt und das in die Eprouvette gefüllte Kali genau abgewogen.

Der von Polowzow[1]) konstruierte Apparat (Fig. 111) hat den Zweck, die *Atmung von auf verschiedenen Nährlösungen* und unter verschiedenen Verhältnissen keimenden Samen zu bestimmen. Für die Anfangsstadien der Keimung dient ein wagrechtes, zirka 250 ccm fassendes, beiderseits zugeschmolzenes Glasrohr *A* als Rezipient. Die eingeschmolzenen und mit Watte gefüllten Kugeln versehenen Röhrchen *a* und *b* ermöglichen die Luftdurchleitung. Die Samen werden in das mit Kautschukstöpsel verschlossene weite Rohr *e* gebracht, der Stöpsel kann mittels des Glasstabes *i* bequem bewegt werden. Durch *c* wird die zum sterilisierenden Auswaschen der Samen dienende Flüssigkeit (Bromwasser) eingegossen, die durch das Röhrchen *d* wieder entfernt werden kann. Der mit dem Apparat durch einen dickwandigen Gummischlauch verbundene Kolben *B* enthält die zur Ernährung der Samen be-

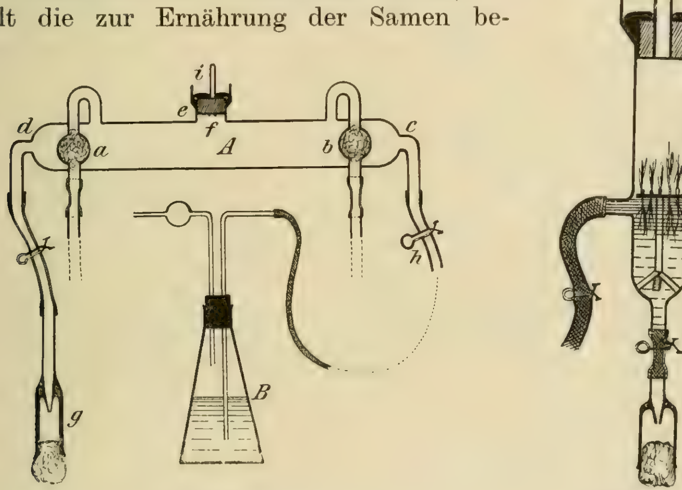


Fig. 111. Fig. 112.
Apparat von Polowzow zur sterilen Aufzucht der im Atmungsversuch verwendeten Pflanzen.

stimmte Flüssigkeit. Apparat und Kolben werden im Autoklaven sterilisiert und die mit Bromwasser gewaschenen Samen in den Apparat eingefüllt, wo sie dreimal mit der Lösung aus dem Kolben *B* nachgewaschen werden; der Untersuchung vorgeschrittener Keimungsstadien dient der aufrechtstehende Apparat (Fig. 112).

Der Apparat von Bonnier und Mangin zur *Untersuchung des Atmungsgaswechsels höherer Pflanzen* (Fig. 113) besteht aus einer Glocke, unter welcher sich die Pflanzen befinden. Die Luft wird durch die Kalilauge in der Flasche *F* von Kohlensäure befreit und durch die Röhre *a* der Glocke zugeleitet und durch das Rohr *b* dem Aspirator zugeführt, welcher das Absaugen der Luft bewirkt. Nachdem die Glocke mit kohlensäurefreier Luft gefüllt ist, werden die Hähne 1 und 2 geschlossen.

---

[1]) Nach W. Palladin und S. Kostytschew, „Methoden zur Bestimmung der Atmung der Pflanzen", Abderhaldens Biochem. Arbeitsmeth. Bd. III, p. 485.

Unter der Glocke befindet sich ein Gefäß mit Wasser, das den Raum feucht erhält. Von Zeit zu Zeit entnimmt man dem Apparat Gasproben, die man analysiert. Der Dreiweghahn R wird zur Entnahme so gestellt, daß die Röhre b mit der einen Gaspipette kommuniziert; durch Senken dieses Gefäßes führt man eine entsprechende Gasmenge aus der Glocke in die linke Pipette; dann stellt man den Hahn R so ein, daß sie mit der Röhre d kommuniziert, und verdrängt das Gas durch Heben des Gefäßes t' in die Eprouvette, welche mit Quecksilber gefüllt und auf die Mündung der Röhre d aufgesetzt ist. Die entnommene Gasprobe analysiert man am besten mit Hilfe eines der im nachfolgenden beschriebenen Apparate. Das Volumen der Glocke bestimmt man auf folgende Art: man entnimmt aus der Glocke die Gasportion v, die man beim atmosphärischen Druck H mißt. Das Manometer M gibt uns die Verminderung des Gasdruckes unter der Glocke an; bezeichnet h den Gasdruck in der Glocke vor Entnahme der Portion v, h^1 nach deren Entnahme, so ist das gesuchte Gasvolumen x unter der Glocke $= \frac{vH}{h - h^1}$.

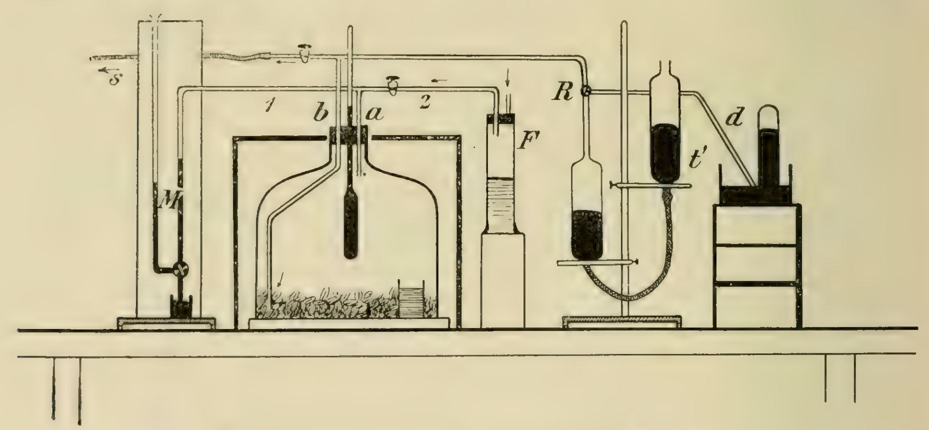


Fig. 113. Atmungsapparat von **Bonnier** und **Mangin**.

Um bei der Entnahme des Gases eine Durchschnittsprobe zu erhalten, treibt man das Gas mehrmals in die linke Gaspipette und wieder zurück, wodurch ein gründliches Mischen des Gases bewerkstelligt wird. Für kleinere Mengen Versuchsmaterial kommt man mit der einfacheren, von **Palladin** angegebenen Versuchsanordnung (Fig. 114) aus. Wenn man für Keimpflanzen wohl die **Bonnier**schen Glocken nicht entbehren kann, ist es handlicher, für Samen die 200—500 ccm fassenden, mit doppelt durchbohrtem Kautschukstöpsel und doppelt gebogenem Zu- und Ableitungsrohr versehenen konischen Kolben **Palladins** zu benutzen. Die Erweiterung c oberhalb des Stöpsels füllt man mit Quecksilber, um einen vollkommen luftdichten Abschluß zu erzielen. Nachdem man genügend lange Zeit kohlensäurefreie Luft durch den Kolben geleitet hat, versenkt man den rechten Schenkel des Ableitungsrohres b in Quecksilber, dieses Rohr dient als Manometer; das Zuleitungsrohr a verbindet man durch einen mit dem Schraubenquetschhahn d versehenen dickwandigen Kautschukschlauch mit einer zur Entnahme der Gasproben bestimmten Gaspipette. Durch Entnahme einer entsprechenden Gasmenge stellt man das Quecksilberniveau im Manometerrohr

auf beliebige Höhe ein und füllt alsdann den Gummischlauch und den linken Schenkel des Rohres *a* mit Quecksilber; dadurch wird ein vollkommen luftdichter Verschluß bewirkt, da die innere Atmosphäre des Kolbens von der äußeren Luft durch Glas und Quecksilber getrennt bleibt. Die Entnahme der Gasproben und die Ermittlung des Kolbenvolumens führt man auf dieselbe Weise aus wie beim Bonnierapparat, nur daß man die dortige Gaspipette durch folgende zweckmäßige Modifikation ersetzen kann (Fig. 115). Außer dem Dreiweghahn *R* ist an der Pipette noch der einfache Glashahn *S* zwischen den beiden Gefäßen *l* und *l'* angebracht; durch entsprechende Drehung des Dreiweghahnes stellt man die Kugel *l* je nach Bedürfnis entweder mit dem Rohr *b* oder mit dem Rohr *d* in Kommunikation. Der einfache Hahn *S* dient zur Regulierung des Quecksilberstromes. Handelt es sich darum, den Atmungskoeffizienten sehr geringer Mengen von Pflanzensubstanz zu bestimmen, so sperrt man die zu untersuchenden Objekte mit Quecksilber in sehr dickwandige Reagenzgläser ein, wo die Pflanzen im oberen Teile durch Glaswolle festgehalten

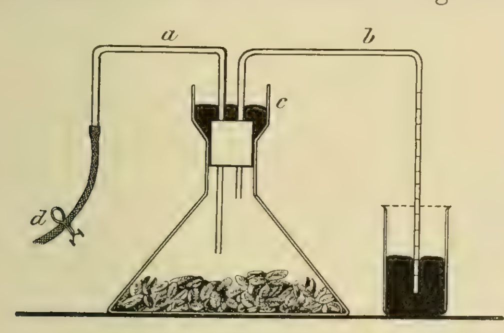


Fig. 114. Kulturkolben nach Palladin für Samen oder Blätter.

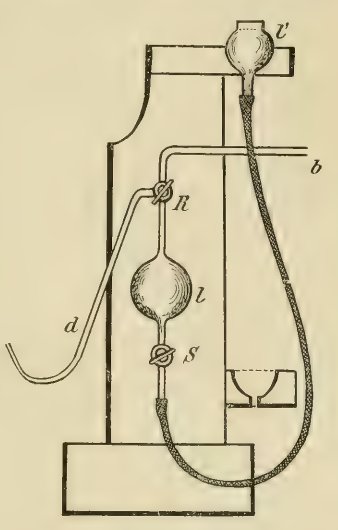


Fig. 115. Gaspipette zur Entnahme von Gasproben.

sind. Die Entnahme von Gasproben erfolgt mit der Gasbürette und die Messung in einem der üblichen Eudiometer.

Der *genaueste der für die Pflanzenatmung verwendeten Apparate*, allerdings etwas komplizierter in der Handhabung ist der von Polowzow-Richter (Fig. 116), den ich in der Beschreibung Palladins vorführe. Der wichtigste Teil des Apparates ist das Meßrohr $A\,A'A''A'''$; der kalibrierte Teil des Rohres befindet sich in dem mit Wasser gefüllten Glaszylinder *B*, das äußere Ende A''' in der Quecksilberwanne *c*, in welche auch die Enden der Gaspipetten *D* und *E* hineinragen. Das andere Ende des Meßrohres ist mittels eines dickwandigen Gummischlauches mit der Birne *H* verbunden, die mit Quecksilber gefüllt ist. Mittels dieser Birne und des Glashahnes *e* kann man das Quecksilberniveau im Meßrohr auf beliebige Höhe einstellen. Der nicht graduierte Teil des Meßrohres $0^0\,O\,A''\,A'''$ ist ein enges Kapillarrohr; dadurch wird eine bequemere und genauere Einstellung des Quecksilberniveaus auf dem Strich *O* erzielt; für feinere Verschiebungen des Quecksilbers dient die in einem Ansatzrohr in Quecksilber versenkte Stahlschraube *e*.

Die Quecksilberwanne *c* und die beiden Gaspipetten *D* und *E* sind durch dickwandige Gummischläuche und durch ein T-Rohr mit

der Birne *g* verbunden. Wenn man die beiden Glashähne *n* und *p* schließt und den Quetschhahn *M* öffnet, so kann man die Wanne *c* mit Hilfe der Birne entleeren oder mit Quecksilber füllen. Wenn man den Quetschhahn *M* schließt und einen der beiden Glashähne *n* und *p* öffnet, so kann man durch die entsprechende Gaspipette Quecksilber, je nach Lage der Birne, in beliebiger Richtung fließen lassen. Für feinere Verschiebungen der Quecksilbersäule im oberen Rohre der Pipette *D* dient die Stahlschraube *f*; die Pipette *D* ist für Kalilauge bestimmt, die Pipette *E* ist eine Explosionspipette, in deren obere Räume Platindrähte eingeschmolzen sind, die aufwärts gerichtet sind und an ihren Enden 1—2 mm voneinander abstehen; außerhalb der Kugel sind die Platindrähte mit den Poldrähten eines Ruhmkorffschen Funkeninduktors in Verbindung gebracht, der seinerseits einem Zink-Kohle-Element angeschlossen ist, das mit einer Chromsäurelösung aus 92 g $K_2Cr_2O_7$, 93,5 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 900 g Wasser beschickt ist. Durch das Überspringen des Induktionsfunkens in der Kugel *E* ist das Verpuffen minimalster Gasquantitäten ermöglicht.

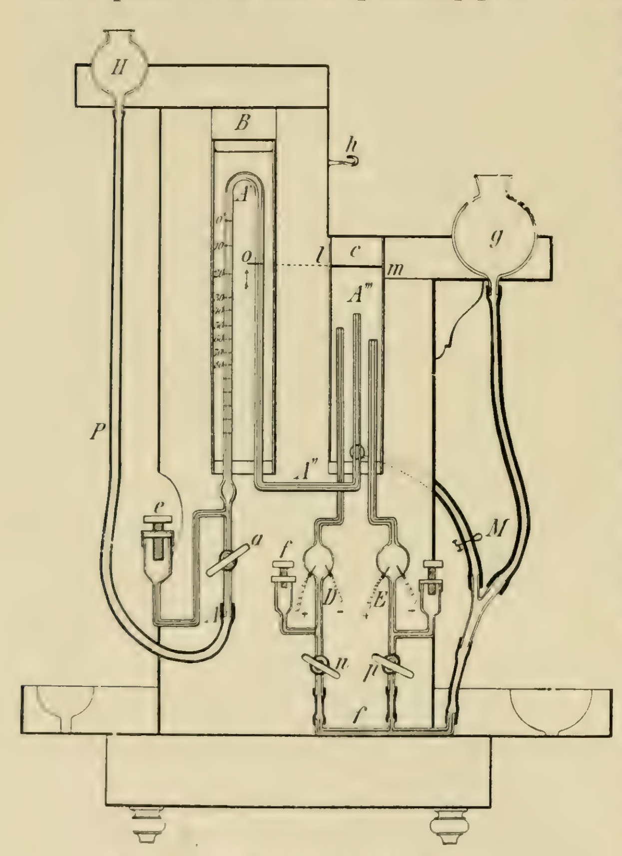


Fig. 116. Apparat nach Polowzow-Richter.

Das Ablesen des Meßrohres führt man mit Hilfe eines Horizontalmikroskopes aus, das durch Auszug und Zahntrieb vertikal und horizontal verstellbar ist. Man stellt das Instrument so ein, daß jeder Millimeterabstand des Meßrohres durch das Mikrometer im Okular des Mikroskopes in 20 Teile geteilt wird. Für die Analyse sind kleine Eprouvetten von 6—7 cm Länge mit angeschmolzenem Glashalter notwendig.

Mittels der beiden Birnen *g* und *H* füllt man das Meßrohr, die beiden Gaspipetten *D* und *E* und die Wanne *c* mit reinem, trockenem Quecksilber. Nach dem Füllen der Gaspipetten und der Wanne *c* bis zum Strich *lm* dürfen nur 2—3 ccm Quecksilber in der Birne *g* bleiben. Den Glaszylinder *B* füllt man mit destilliertem Wasser und deckt ihn mit einer Glasplatte zu. Von Zeit zu Zeit wird das Wasser abgehebert und durch frisches ersetzt. Die Kugel der Gaspipette *D* füllt man zu einem Drittel mit verdünnter Kalilauge (7 prozentiges KOH verändert

die Tension des Wasserdampfes nicht, man braucht also in diesem Fall nach Absorption der Kohlensäure das Gas nicht wieder anzufeuchten, während man es bei Verwendung stärkerer Kalilauge vor der Messung in die Pipette *E* überzuführen hat, wo es durch das den Wänden der Pipette anhaftende Wasser angefeuchtet wird). Das Füllen der Absorptionsgefäße mit Kalilauge geschieht auf folgende Weise: Eine Eprouvette wird mit etwa 3—4 ccm Kalilauge beschickt und die Lauge mit Quecksilber abgesperrt; die Eprouvette überträgt man mittels eines eisernen Löffels in die Quecksilberwanne *c* und setzt sie unter Quecksilber auf die Mündung der Absorptionspipette so tief auf, daß das Ende der Pipette in Kalilauge taucht. Jetzt saugt man mit Hilfe der Birne *g* eine entsprechende Menge der Kalilösung in die Pipette ein, wonach man durch Aufheben der Eprouvette das obere Ende der Pipette in Quecksilber versenkt; dann saugt man eine Zeitlang Quecksilber in die Pipette ein, um die Lauge, welche den Wandungen des oberen Rohres anhaftet, zu entfernen. Nach dem Füllen der Pipette ist also die in der Kugel enthaltene Kalilauge durch das im oberen Rohr befindliche Quecksilber gesperrt; die Bestimmung des Sauerstoffs geschieht durch Verpuffung mit Wasserstoff als Knallgas, den man sich durch Elektrolyse von Wasser bereitet und in den durch Quecksilber gesperrten Eprouvetten aufbewahrt.

Vor dem Gebrauche muß der Apparat sorgfältig kalibriert werden. Der linke Schenkel des im Glaszylinder *B* befindlichen Teiles des Meßrohres ist in Millimeter geteilt, am rechten engeren Schenkel des Rohres ist aber nur eine Marke *O* auf dem Niveau des Striches *lm* der Quecksilberwanne aufgetragen. Bei der Analyse stellt man die Kuppe des Quecksilbermeniskus im rechten Schenkel des Rohres genau auf den Strich *O* ein; die Messung des Gases findet also bei Atmosphärendruck statt. Nun muß noch das Volumen des Raumes $o^0 O$ ermittelt werden. Man sperrt in eine Eprouvette einige Kubikzentimeter Luft mit Quecksilber, überträgt die Eprouvette in die Wanne *c*, setzt sie unter Quecksilber auf das Ende der Meßrohres auf und saugt mittels der Birne *H* und des Hahnes *a* zuerst etwas Luft, dann eine geringe Menge Quecksilber, schließlich wieder Luft in das Meßrohr ein; das Volumen des eingeführten Quecksilbers hält man möglichst annähernd so groß wie der Raum $O\,O'$ ist, entfernt eventuell einen Quecksilberüberschuß durch die Schraube *e*. Die eingeführte Quecksilbersäule stellt man so ein. daß die Kuppe des unteren Meniskus mit dem Striche *O* zusammenfällt, und notiert unter Ablesung mit dem Horizontalmikroskop die Lage des höchsten Punktes beim anderen Meniskus im linken Schenkel des Rohres; dann verschiebt man die Quecksilbersäule so, daß der rückwärtige Meniskus die Lage des vorderen einnimmt, und notiert die neue Lage; so mißt man das ganze graduierte Rohr mit derselben Quecksilbersäule und kann die entsprechenden Korrekturen anbringen, zu denen noch die für den Raum $o^0 O$ ermittelte Zahl addiert werden muß.

Die Analyse: Das zu analysierende Gas muß in einer Eprouvette mit Quecksilber abgesperrt sein, die Eprouvette wird in die Wanne *c* übertragen, unter Quecksilber auf das Ende des Meßrohres aufgesetzt und eine entsprechende Gasmenge in das Meßrohr eingesaugt und dieses dann durch Aufheben der Eprouvette mit Quecksilber gesperrt. Dann entfernt man die den Gasüberschuß enthaltende Eprouvette aus der Wanne und ersetzt sie durch eine andere, die völlig mit reinem, trockenem

Quecksilber gefüllt ist; diese Eprouvette läßt man im Quecksilber schwimmen, indem man den Glashalter an dem Haken *h* aufhängt. Nun stellt man das Quecksilberniveau in der Wanne *c* genau auf den Strich *lm* ein, den Quecksilbermeniskus im rechten engeren Schenkel des Rohres stellt man mit Hilfe der Schraube *e* und einer Lupe auf den Strich *O* ein, notiert nach Ablesung mit dem Horizontalmikroskop die Lage des höchsten Punktes des Quecksilbermeniskus im linken Schenkel des Meßrohres und berechnet nach der Korrektionstabelle das korrigierte Gasvolumen. Jetzt führt man das Gas aus dem Meßrohr in die mit Quecksilber gefüllte Eprouvette über, die man hierbei unter dem Quecksilber auf das Ende des Meßrohres so tief aufsetzt, daß das Ende des Rohres die Wölbung der Eprouvette berührt. Diese überträgt man dann unter Quecksilber auf das Ende der Absorptionspipette *D* und saugt das Gas mittels der Birne *g* und des Hahnes *n* in die Pipette ein. Bei Anwendung einer verdünnten Kalilösung muß das Gas etwa 10 Minuten in der Pipette bleiben, während dieser Zeit läßt man durch Senken der Birne *g* und eine entsprechende Drehung des Hahnes *n* Quecksilber tropfenweise aus der Wanne in die Pipette fließen; nach Ablauf von 10 Minuten treibt man das Gas aus der Pipette in die auf das obere Rohr aufgesetzte Eprouvette zurück; der größte Teil des Gases wird mit Hilfe der Birne *g* ausgetrieben; zuletzt schließt man den Hahn und entfernt den Rest des Gases mittels der Schraube *f*, wobei man das Quecksilberniveau in der Wanne *c* so niedrig einstellt, daß man das Ende des oberen Rohres mit der daraufgesetzten Eprouvette sehen kann. Beim Verdrängen des Gases aus der Absorptionspipette hat man dafür zu sorgen, daß keine Spur Lauge in die Eprouvette eindringt; sollte das geschehen sein, so führt man das Gas in die Pipette über und ersetzt die verunreinigte Eprouvette durch eine mit reinem Quecksilber gefüllte, weil sonst beträchtliche Fehler bei der nachfolgenden Ablesung geschehen können. Nach Absorption der Kohlensäure wird das Gas wieder in das Meßrohr übergeführt und neuerdings das Volumen abgelesen; die Differenz beider Ablesungen ist die Menge der Kohlensäure. Jetzt treibt man das Gas in die Eprouvette zurück, in die Wanne *c* führt man eine mit Wasserstoff gefüllte Eprouvette ein, setzt sie auf das Ende des Meßrohres auf und saugt in das Meßrohr ein Quantum Wasserstoff ein, das man nach dem mutmaßlichen Sauerstoffgehalt des zu messenden Gasgemisches wählt. War die Menge der Kohlensäure geringer als 8 %, so muß die aufgesogene Wasserstoffmenge etwa zwei Fünftel des ursprünglichen Volumens des zu analysierenden Gases betragen; man ermittelt das Volumen des Wasserstoffes und führt ihn dann in die Eprouvette über, welche das zu analysierende Gas enthält; der Inhalt der Eprouvette wird dann in die Explosionspipette eingesogen und verpufft. Die Explosion wird dadurch hervorgerufen, daß man das Zink-Kohle-Element einen Moment in Betrieb setzt. Dabei senkt man die Birne *g* möglichst tief und öffnet gleichzeitig den Hahn *p*, wodurch ein Quecksilberstrom von der Wanne *c* in die Pipette hergestellt wird. Nach der Verpuffung treibt man das Gas durch Heben der Birne *g* in die Eprouvette zurück, die Eprouvette überträgt man auf das Ende des Meßrohres, saugt das Gas in das Meßrohr ein und ermittelt das Volumen des Gases. War *a* das Volumen des zu analysierenden Gases nach erfolgter Kohlensäureabsorption, *b* das Volumen des Wasserstoffs und *c* das Volumen der Gasmischung nach der Explosion, so ist das

Volumen des Sauerstoffs $= \frac{a + b - c}{3}$. Der Stickstoff wird aus der Differenz berechnet. Ist der Sauerstoffgehalt des zu analysierenden Gases sehr gering, so ist es möglich, daß beim Überspringen des Funkens gar keine Explosion stattfindet; in diesem Falle fügt man eine gemessene Menge von etwa einem Drittel vom Volumen des zu analysierenden Gases an Knallgas hinzu und wiederholt die Verpuffung. Man kann mit dem Polowzowschen Apparat selbstredend nicht nur ein Gasgemisch von Kohlensäure, Sauerstoff und Stickstoff analysieren, sondern auch Wasserstoff, Kohlenoxyd, Methan und anderer Gase mit Hilfe geeigneter Absorptionsflüssigkeiten bestimmen. Zur Analyse eines Gemisches von Kohlensäure, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff bringt man das Gas nach Bestimmung des Gesamtvolumens zunächst in Kalilauge, wo die Kohlensäure absorbiert wird, dann verpufft man es zur Bestimmung des Wasserstoffs in der Explosionspipette, wobei man bei Zuführung von Knallgas dessen Menge nicht zu hoch wählen darf, da sonst ein Teil des Stickstoffs zu Stickoxyden oxydiert werden kann. Hat nach der Explosion eine Volumenverminderung stattgefunden, so setzt man dem Gase eine im Meßrohr genau abgemessene Menge kohlensäurefreier Luft zu und bringt wieder zur Verpuffung, wiederholt diesen Vorgang eventuell bei nochmaliger Volumverminderung; bleibt das Volumen des Gases nach der zweiten Explosion unverändert, so berechnet man das Volumen des Wasserstoffs folgendermaßen: war a das Volumen des Gases nach der Absorption der Kohlensäure und b nach der Explosion, so ist das Volumen des Wasserstoffs $\frac{2}{3}(a - b)$. War das mit Sauerstoff verbrennbare Gas reiner Wasserstoff, so darf bei der Explosion keine Spur Kohlensäure gebildet worden sein, wovon man sich durch nochmalige Absorption in Kalilauge überzeugt. Für die Bestimmung des Sauerstoffs nimmt man besser eine neue Gasprobe und zieht bei der Zufügung von Wasserstoff zur Explosion die im Gasgemisch bereits vorhandene Wasserstoffmenge in Rechnung.

Die Kohlensäurebestimmungen mit dem Polowzowschen Apparat haben eine Fehlergrenze von 0,15 % die Sauerstoffbestimmungen von 0,1 %. Für die Genauigkeit der Bestimmungen ist vor allem exaktes Kalibrieren des Meßrohres von Belang, ferner die Reinheit des Quecksilbers. Wenn man bemerkt, daß das Quecksilber sich nicht sehr leicht im Meßrohr bewegt oder gar an der Wand haften bleibt, muß das Rohr gereinigt werden. Man setzt unter dem Quecksilber eine mit 15 prozentiger Salpetersäure gefüllte Eprouvette auf das Ende des Meßrohres auf und führt die Flüssigkeit in das Rohr ein; nach einigen Minuten treibt man die Flüssigkeit in die Eprouvette zurück und wäscht das Rohr ebenso einigemal mit destilliertem Wasser. Dann entleert man das Meßrohr, den Gummischlauch P und die Birne H und trocknet das Rohr mittels Durchblasens erwärmter Luft. Die Einstellung der Quecksilbersäule auf den Strich O im Meßrohr muß immer durch eine Bewegung in der Richtung des Pfeiles erfolgen. Die Ablesungen während einer Analyse müssen bei konstanter Temperatur vorgenommen werden, die Temperaturschwankungen kontrolliert man mittels eines im Zylinder B in das Wasser getauchten Thermometers und gleicht durch Zugießen wärmeren oder kälteren Wassers aus. Man kann mit Hilfe dieses Apparates während kurzer Zeit (eine Analyse nimmt höchstens eine halbe Stunde

in Anspruch) eine ganze Reihe exakter Gasmessungen durchführen, für jede Analyse genügen sehr geringe Gasmengen; der Apparat erfordert wenig Quecksilber und seine Handhabung ist, einmal eingeübt, nicht schwierig. Die Art der Gasbestimmung durch Explosion ermöglicht nicht nur eine sicherere und elegantere Sauerstoffbestimmung als durch Absorption mit alkalischer Pyrogallollösung, sondern auch die Bestimmung von Wasserstoff, Kohlenoxyd und anderer Gase.

Einfacher ist der Apparat von Bonnier und Mangin, von welchem zunächst die Modifikation von Baranetzky beschrieben sei (Fig. 117). Auf einem Holzbrettchen ist das etwa 0,7 mm weite mit der Kugel *e* und dem Glashahn *h* versehene Glasrohr montiert. Der etwa 70 bis 100 cm lange Teil *cd* des Rohres ist in Millimeter geteilt und kalibriert. Ein an die Kugel angeschalteter Kautschukschlauch verbindet das Rohr mit der Birne *f*, die in einem auf einem Stativ verstellbaren Messingring liegt. Der Teil *a* des Rohres ist in eine (auf der Abbildung nicht dargestellte) mit Quecksilber gefüllte Glaswanne eingeführt. Das ganze Rohr, die Kugel *e*, der Gummischlauch und die Birne *f* sind mit Quecksilber gefüllt. Die Eprouvette, welche das zu analysierende Gas enthält, wird nun in die Quecksilberwanne eingeführt und unter Quecksilber auf das Ende des Rohres *a* aufgesetzt. Durch Senken der Birne *f* und gleichzeitiges Öffnen des Hahnes *h* fängt man eine entsprechende Gasmenge in dem Teil *ab* des Rohres ein und sperrt das Gas durch Heben der Eprouvette mit Quecksilber. Sobald das eingeführte Gas den graduierten Raum des Rohres eingenommen hat, schließt man den Hahn *h* und legt die Birne *f* in den Messingring. Jetzt senkt man die Nadel *g*, bis sie die Oberfläche des Quecksilbers in der Birne berührt, und schraubt sie in dieser Lage fest; diese Lage der Nadel bleibt während der ganzen Dauer der Analyse unverändert. Nachdem man die Länge der Gassäule ermittelt hat, entfernt man aus der Wanne die den Überschuß des Gases enthaltende Eprouvette und ersetzt sie durch eine andere Eprouvette, welche mit konzentrierter Kalilauge gefüllt ist. Durch Senken der Birne *f* und Öffnen des Hahnes *h* führt man die Lauge in den Teil *ab* des Rohres ein. Durch Heben der Birne treibt man die Lauge sofort in die Eprouvette zurück und führt gleichzeitig das Gas in den Teil *ab* des Rohres über, wobei man darauf achtet, daß die Gassäule den Hahn *h* nicht erreicht. Die den Wandungen des Rohres anhaftende Kalilauge absorbiert die Kohlensäure aus dem Gasgemisch. Jetzt öffnet man wieder den Hahn *h* und treibt das Gas in den graduierten Teil des Rohres, wonach man die Birne *f* so einstellt, daß die Nadel *g* die Oberfläche des Quecksilbers berührt. Dann schließt man den Hahn und liest die Länge der Gassäule ab, die Differenz der beiden Ablesungen gibt die Menge der Kohlensäure. Jetzt führt man ebenso alkalische Pyrogallollösung in das Rohr ein und bestimmt durch dieselbe Manipulation die

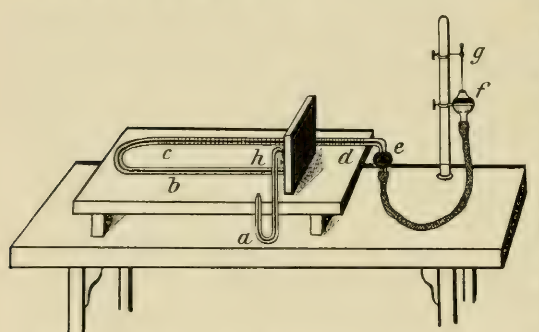


Fig. 117. Baranetzkys Modifikation des Atmungsapparates nach Bonnier.

Menge des enthaltenen Sauerstoffs. Nach Beendigung der Analyse entfernt man die Quecksilberwanne, verbindet das Ende *a* des Rohres durch einen Gummischlauch mit einem kleinen Trichter, füllt den Trichter mit verdünnter Salpetersäure, saugt die Säure in das Rohr ein und treibt sie in die Eprouvette zurück, welche Operation man zwei- bis dreimal wiederholt, um schließlich das Rohr in derselben Weise mehrmals mit destilliertem Wasser zu waschen. Dann entfernt man den Trichter, entleert durch Senken der Birne das Rohr und die Kugel *e* und trocknet das Rohr mittels Durchsaugens von Luft, wobei man den das Rohr mit der Birne verbindenden Gummischlauch entfernt. Der graduierte Teil des Rohres ist mit einer Glasplatte bedeckt, wodurch ein durch den Experimentator mögliches Erwärmen des Rohres verhütet wird. Auf diese Weise wird der Prozentgehalt an den einzelnen Bestandteilen eines Gasgemisches ermittelt. Ist auch die Kenntnis der absoluten Menge des absorbierten Sauerstoffs und der gebildeten Kohlensäure erwünscht, so muß nicht nur die prozentische Zusammensetzung, sondern auch das Gesamtvolumen des Gases im Rezipienten sowohl zu Beginn als am Ende des Versuches ermittelt werden. Handelt es sich aber nur um den Koeffizienten $\frac{CO_2}{O_2}$, so ist der Inhalt des mit den Pflanzen beschickten Rezipienten nicht von Belang; in diesem Falle genügt eine Bestimmung der einzelnen Bestandteile des Gasgemisches am Ende des Versuches. Es seien *a*, *b* und *c* die am Ende des Versuches für Kohlensäure, Sauerstoff und Stickstoff (welcher physiologisch nicht in Aktion tritt) gefundenen Prozentzahlen. Die Zusammensetzung der Luft im Rezipienten zu Beginn des Versuches sei $O_2 = 20{,}9\ \%$, $N_2 = 79{,}1\ \%$. Ist *c* nicht $= 79{,}1\ \%$, so bedarf die für den absorbierten Sauerstoff gefundene Zahl einer Korrektur in folgender Weise: ist die Menge des Stickstoffs *c*, so war die dem Stickstoff äquivalente Sauerstoffmenge gleich $20{,}9 \cdot \frac{c}{79{,}1}$; danach ist die Menge des absorbierten Sauerstoffs gleich $\frac{20{,}9 \cdot c}{79{,}1} \cdot b$ und der Koeffizient $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{a}{\frac{20{,}9}{79{,}1} \cdot c \cdot b}$. Bezeichnen wir den Quotienten $\frac{20{,}9}{79{,}1}$ mit *q*, so ist $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{a}{cq \cdot b}$. Man ermittelt durch eine Reihe von Analysen den von 20,96 % bis 20,80 % schwankenden Sauerstoffgehalt der umgebenden Luft und berechnet danach die Größe von *q*.

Der Apparat von Bonnier und Mangin[1]), der eine sehr genaue Analyse von Gasgemischen auf einfachem Wege gestattet (Fig. 118), besteht aus dem Pumpenkörper *AB*, der prismatisch oder zylindrisch geformt ist und nach rückwärts durch einen zylindrischen Teil *RR*, aus Bronze fortgesetzt wird und dort mit einer Schraubenmutter versehen ist, in welche durch Reibung der Stempel des Schraubenstückes *T* eingepaßt ist. Dieses ist an einer Seite durch den Pumpenstempel *P* begrenzt und auf der andern durch eine runde Scheibe mit dem Handgriff *M*, welcher den Stempel mehr oder weniger tief in den Pumpenkörper hineinzutreiben

[1]) Aubert, Nouvel appareil de M. M. Bonnier et Mangin pour l'analyse des gaz, Revue générale de botanique T. 3, 97 (1891).

gestattet. Dieser letztere liegt mit einer seiner Flächen auf dem Brett XY aufmontiert. Die entgegengesetzte Fläche besitzt zwei Öffnungen, die eine, O ist kapillar und ganz am Rande des Pumpenkörpers angebracht und kann hermetisch durch die Schraube V geschlossen werden; in der anderen, O_1, ist eine Röhre C angebracht, die durch eine Art Trichterrohr mit dem langen Kapillarrohr $DEFGH$ verbunden ist, welches eine Innenweite von zirka 1 mm besitzt. Am Beginn dieser Röhre ist eine Erweiterung von 1—2 ccm Fassungsraum angeblasen, die Röhre ist bei D rechtwinklig gebogen. Der horizontale Teil DE von 70 ccm Länge ist fein kalibriert und gleichmäßig der Länge nach graduiert. Die 600 Teilgrade umfassen beiläufig 60 cm. Die Röhre besitzt überdies noch drei rechtwinklige Biegungen bei EFG. Der aufrechtstehende Teil GH ist am Ende ausgezogen und bildet die senkrechte Achse der dickwandigen Glaswanne L. Das Ende H ist außerhalb der Ebene gelegen, in welcher die horizontale Achse des Rohres DE liegt. Die Wanne L ist an ihrem Grunde durch eiserne Schrauben an der Metallstütze N angeschraubt, die ihrerseits an dem Brett XY befestigt ist. Diese Metallfläche bildet in ihrem oberen Teile den Boden der

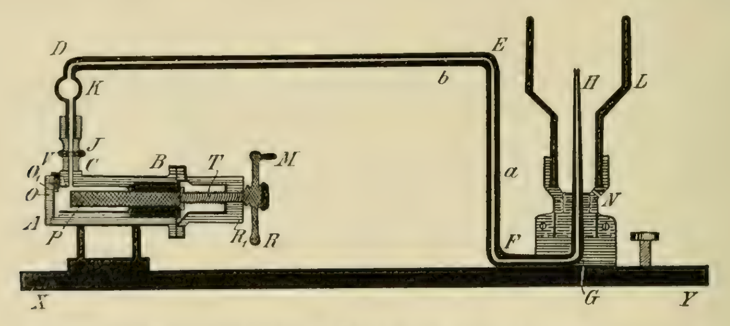


Fig. 118. Bonnier-Mangins Atmungsapparat.

Küvette, die überdies mit einer schmalen Rinne versehen ist, deren Lichte sich nach außen bei N erstreckt und durch einen Metallstöpsel verschlossen ist. Der Apparat wird folgendermaßen mit Quecksilber gefüllt. Der Schraubenstempel wird völlig nach rechts mittels der Handhabe M zurückgezogen, die Stütze XY wird von der Seite X gehoben und zirka 30 Grad geneigt. Nachdem die Schraube V gelüftet ist, gießt man mittels eines kapillar ausgezogenen Trichters durch die Bohrung O vollkommen reines, trockenes Quecksilber. Nachdem der Pumpenkörper voll ist, klopft man ihn an seiner Oberfläche leicht, um eventuell hineingeratene Luftblasen bei O herauszutreiben, welche an den Wänden haften könnten. Man setzt die Schraube V wieder auf und bringt den Apparat in die Horizontallage. Die Wanne L wird darauf mit reinem trockenem Quecksilber so gefüllt, daß die freie Quecksilberoberfläche über der Horizontalachse der Röhre DE liegt. Dann dreht man den Pumpenkolben in den Pumpenkörper ein. Das Quecksilber erfüllt allmählich die Erweiterung und alle Teile der Röhre $DEFGH$. So vorbereitet kann aber der Apparat noch nicht zur Analyse verwendet werden, da das Kapillarrohr immer noch Staubkörnchen enthält, welche an den Wandungen haften, so daß das Quecksilber sich nicht gleichmäßig ausdehnen kann und Luftbläschen einschließt. Man wäscht also

die Kapillarröhre mit reiner verdünnter Salzsäure und darauf einigemal mit destilliertem Wasser.

Die Salzsäure befindet sich in einer Glasröhre, welche eng genug ist, um in den weniger breiten Teil der Wanne L eingeführt zu werden. Man kehrt die mit dem Daumen verschlossene Röhre T unter Quecksilber um und taucht sie soweit ein, daß der äußerste Teil der Röhre H in die Säure taucht. Sie sitzt jetzt fest und währenddes wird der Pumpenkolben ein wenig nach rechts zurückgezogen, so daß die Säure bis gegen D eindringt, bis zum Beginn der Erweiterung, aber noch nicht in diese selbst hinein. Die Säure wird dann wieder durch vorsichtige Drehung des Kolbens nach links hinausgedrängt. Eventuell führt man noch eine Ausspülung mit der Säure durch. Wichtig ist, daß die Flüssigkeiten — man wäscht dann auf dieselbe Weise mit Wasser nach — nur ganz langsam hinausgetrieben werden. Dann trocknet man das Kapillarrohr: man nimmt eine völlig reine trockene Eprouvette, taucht sie mit der Mündung verkehrt in das Quecksilber oberhalb H. Man bewirkt eine heftige Vertikalschwingung der Eprouvette, so daß das Ende von H abwechselnd in Luft und Quecksilber ragt, und dreht unterdes den Kolben P nach rechts. Dadurch dringt in das Kapillarrohr abwechselnd eine Luftblase und etwas Quecksilber, das man langsam wieder hinaustreibt. Das an den Wänden der Röhre DE anhaftende Wasser wird durch den Quecksilbertropfen herausgezogen. Man tupft es vorsichtig mit Josephspapier ab, so daß die Quecksilberfläche in der Wanne trocken ist. Durch Wiederholung dieser Operation pflegt man eine vollkommene Austrocknung der Röhre bewirken zu können, und der Apparat ist zur Analyse fertig. Es sei eine Gasmischung von Sauerstoff, Stickstoff und Kohlendioxyd zu analysieren. Man bereitet vorher zur Absorption der Kohlensäure die Kalilauge und zur Absorption des Sauerstoffs die alkalische Pyrogallollösung vor. Über ein mit Quecksilber gefülltes sauberes Gefäß wird eine 7—8 cm hohe, 1 cm breite, mit dem Daumen verschließbare Eprouvette gestülpt. Man gibt ein kleines Stückchen Ätzkali hinein und füllt den übrigen Raum mit Quecksilber. Mittels einer umgebogenen Pipette führt man 3—4 ccm destilliertes Wasser ein und hat so eine Kalilösung bei Ausschluß von Luft hergestellt. Ebenso verfährt man behufs Herstellung des Pyrogallats, nur daß man jetzt in die mit etwas festem Ätzkali beschickte, mit Quecksilber verschlossene Eprouvette statt des Wassers 3—4 ccm einer gesättigten, frisch in der Kälte bereiteten wässerigen Auflösung von Pyrogallol aufsteigen läßt. Man muß den Eintritt von Luft in diese Röhren verhindern und die Pyrogallollösung durch Umhüllung mit schwarzem Papier vor Belichtung schützen. So hergestellte Lösungen können für mindestens zwanzig Analysen dienen.

Für die Analyse des genannten Gasgemisches, das sich in einer kleinen Eprouvette befindet, kehrt man diese, mit dem Daumen verschlossen, um und überträgt sie über Quecksilber in die Wanne L. Man schiebt sie darin so weit, bis das Ende des Kapillarrohres H mit dem Gas kommuniziert. Man zieht den Kolben P nach rechts, bis die aufgenommene Gassäule den Teil $aFGH$ erfüllt. Die Gaseprouvette wird gehoben, das Quecksilber in L mit Josephspapier getrocknet und die Gassäule durch Rechtsdrehung des Kolbens mitgezogen und gelangt in den graduierten Teil der Röhre, wo das Gesamtvolumen V bestimmt wird. Wenn das Kapillarrohr nicht genau kalibriert ist, muß man die

Gassäule beiläufig immer in dieselbe Partie der graduierten Kapillarröhre hineinziehen, um den Fehler, welchen die ungenau kalibrierte Röhre bieten würde, zu verringern.

Man bringt die Gassäule in den Raum $bE\ aF$ zurück und appliziert über dem Quecksilber in L die kleine Eprouvette mit der Kalilösung. Durch Zurückziehen des Kolbens nach rechts wird eine kleine Menge der Lauge nach $bEFGH$ gezogen. Man treibt die Lauge wieder in ihre Eprouvette zurück und gleichzeitig trifft die Gassäule, welche sich in der Erweiterung K und dem vorderen Teile des Kapillarrohres ausbreiten konnte, welcher von der Laugensäule durch einen Quecksilberindex von mehr als 10 cm Länge getrennt ist, an der Innenwandung der Röhre, in bF, eine hinreichende Kalimenge, um das Kohlendioxyd aus dem Gasvolumen V vollkommen zu absorbieren.

Wenn die ganze Laugensäule aus der Kapillarröhre entfernt ist, verhindert ein Index von einigen Zentimetern Quecksilber das Entweichen des Gases. Man entfernt die Laugeneprouvette, dann wird die Oberfläche des Quecksilbers in L und die Spitze des Rohres H mit Josephspapier abgetrocknet und die Gaskolonne im graduierten Teil des Kapillarrohres angeordnet. Das neue Gasvolumen sei $V_1 < V$, dann repräsentiert $V - V_1$ das Volumen des Kohlendioxyds, welches in einem Volumen V der Gasmischung vorhanden war. Man läßt dann den Sauerstoff absorbieren, indem man von neuem die Gaskolonne nach bF im Kapillarrohr bringt und aus der kleinen Eprouvette Pyrogallol einfließen läßt, das in derselben Weise wie früher die Kalilauge behandelt wird. Man bringt die Gaskolonne in jenen Teil der Röhre, die mit der Lösung benetzt ist, die Absorption des Sauerstoffs erkennt man an der mehr oder weniger großen Braunfärbung des Innenraumes der Röhre. Nachdem die Pyrogallollösung zurückgetrieben und das Quecksilber der Küvette sorgfältig abgetrocknet worden ist, liest man das Volumen V_2 des restlichen Gases ab. $V_1 - V_2$ ist dann das Volumen des Sauerstoffs in der Gasmischung. V_1 ist schließlich die Menge des Stickstoffs. Aus den gefundenen Zahlen kann man leicht das prozentuale Verhältnis der Gasmischung feststellen. Nach der Analyse wäscht man das Kapillarrohr mit verdünnter Salzsäure, mit destilliertem Wasser und trocknet schließlich so wie früher mit Luft. Zuzeiten ist es gut, das Quecksilber in L durch neues, trocken und sauber gehaltenes zu ersetzen. Man kann den Apparat auch an ein Quecksilbereudiometer anschließen, welches als Explosionspipette dient.

Bringt man Pflanzen in sauerstoffreie Atmosphäre, so findet natürlich keine Oxydation, aber doch Weitervegetieren auf Kosten einer intramolekularen Spaltung des Energiemateriales statt. Dabei wird neben Kohlensäure Alkohol gebildet; die Kohlensäureproduktion ist in der Regel bei Sauerstoffabschluß bedeutend geringer als bei Sauerstoffzutritt. Wenn wir durch J die Menge des bei Sauerstoffabschluß, mit N die Menge des unter normalen Verhältnissen produzierten Kohlendioxyds bezeichnen, so finden wir bei verschiedenen Pflanzen nach Palladin bei einigen Pflanzen folgende Werte von $\frac{J}{N}$: junge Keimlinge von Vicia Faba 1,197, Triticum vulgare 0,490, Zweige von Abies excelsa 0,077, von Ligustrum vulgare 0,816. Die Menge der gebildeten Kohlensäure ist vor allem von dem Kohlehydratgehalt der betreffenden Pflanze abhängig. Etiolierte, kohlehydratfreie Bohnenblätter erzeugen

bei Sauerstoffabschluß nur geringe Mengen Kohlensäure und sterben bald ab, nach dargebotener Zuckernahrung dagegen produzieren sie große Mengen Kohlensäure und bleiben länger am Leben und ergrünen am Lichte. Auf Kosten der Kohlehydrate entsteht auch der Alkohol, etiolierte Stengelspitzen von Vicia Faba bildeten in der Anaerobiose $CO_2 : C_2H_5OH$ im Verhältnis 100 : 92,6, während dieses Verhältnis bei nicht mit Zucker ernährten Exemplaren derselben Pflanze wie 100 : 26,5 war. Nach sauerstoffreier Behandlung pflegt die CO_2-Entwicklung bei Wiedereintreten normaler Verhältnisse einen starken Aufschwung zu zeigen, da die Produkte der intramolekularen Zerspaltung nunmehr oxydiert werden. Da die intramolekulare Verarbeitung eine geringere Energiemenge produziert als die Oxybiose, ist im ersteren Falle eine größere Quantität Betriebsmaterial notwendig als im letzteren.

Die Atmung, d. h. der Gaswechsel der Atmung, hält ferner auch an, wenn die Pflanzen durch Mittel abgetötet würden, welche der Enzymarbeit keinen Eintrag tun; solche abgetötete Pflanzen scheiden große Mengen Kohlensäure ab. Dieses Abtöten kann auf folgende Weise ausgeführt werden: 1. Autolyse unter Zusatz eines von den Giften, welche das Protoplasma abtöten, auf die Fermente aber kaum einwirken, wie Chloroform, Nitrobenzol, Toluol; 2. Trocknen bei niederer Temperatur und darauffolgendes Zerreiben. Das erhaltene Pulver veranlaßt unter sterilen Bedingungen (in Gegenwart eines Giftes) fermentative Reaktionen; 3. Behandlung mit Azeton; 4. die von Palladin ersonnene Methode der Abtötung durch niedere Temperatur. Diese letztere Methode soll später geschildert werden. Durch Erfrieren getötete Bohnenblätter wurden im Wasserstoffstrom bis zum Aufhören der CO_2-Produktion belassen, dann wurde der Wasserstoffstrom durch einen Luftstrom ersetzt. Die Blätter erzeugten auch hier wieder beträchtliche Mengen Kohlensäure und nahmen eine schwarze Färbung an. Nachdem die Kohlensäureproduktion aufgehört hatte, wurden die Blätter zerrieben und mit Pyrogallollösung versetzt, wodurch wieder Kohlendioxydabscheidung eingeleitet wurde. Schließlich wurde Wasserstoffsuperoxyd zugegeben und auch die hier gebildete Kohlensäurequantität bestimmt. Von den im ganzen gebildeten 1183 mg CO_2 entfielen auf den Wasserstoffstrom 100 mg, auf den Luftstrom 142 mg, nach Zusatz von Pyrogallol entstanden 648 mg und nach Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd 293 mg. Als Atmungsmaterial kommen in erster Linie Kohlehydrate und Fette in Betracht, sie nehmen ab, während die Quantität der stickstoffhaltigen Anteile konstant bleibt, solange jene nicht erschöpft sind. Die Anwesenheit von Kohlehydraten ist für eine normale Atmung auch bei Überschuß an Eiweißstoffen notwendig, die Atmungsenergie sinkt aber auch bei Gegenwart von viel Eiweiß sehr beträchtlich, wenn Kohlehydratmangel eintritt. Etiolierte Bohnenblätter, die sehr eiweißreich sind, scheiden trotzdem nur geringe Mengen Kohlensäure aus, da sie nur sehr wenig Kohlehydrate führen; ihre Atmungsenergie steigt fast ums Doppelte, wenn sie einige Zeit auf Rohrzuckerlösung schwimmen gelassen wurden; doch besteht kein konstantes Verhältnis zwischen Kohlehydratmenge und Atmungsenergie.

Die Tatsache der intramolekularen Atmung läßt sich übrigens sehr einfach demonstrieren. Sechs Bohnen werden 12 Stunden eingeweicht und dann die Samenschale abgezogen, ohne daß der Embryo verletzt

wird. Ein Rest der Testa muß aber übrigbleiben, um die Kotyledonen zusammenzuhalten und das Eindringen von Luft zu verhindern, so daß gezeigt werden kann, daß Kohlensäure auch ohne Zutritt von freiem Sauerstoff entwickelt wird. Eine Eprouvette wird mit Quecksilber gefüllt und in einer Glaswanne unter Quecksilber umgekehrt (Nebenbei gesagt, soll man in allen Versuchen, in denen Quecksilber zur Anwendung kommt, das betreffende Gefäß in eine starke Holzfassung stecken, damit das Quecksilber, wenn irgend etwas passiert, nicht auf den Fußboden rollen kann.). Die geschälten Bohnen werden nun unter die Mündung der Eprouvette gebracht, so daß sie durch das Quecksilber in die Eprouvette eindringen und auf dem Quecksilber schwimmen. Am folgenden Tag ist die Eprouvette halb mit Gas gefüllt und die Bohnen nicht mehr halb von Quecksilber bedeckt sondern deutlich sichtbar. Einige mit einer gebogenen Pipette eingebrachte Kubikzentimeter Wasser und ein Stückchen Ätzkali bilden eine starke Kalilösung, welche das Gas absorbiert, so daß das Quecksilber fast bis zur Kuppe steigt, ein Beweis, daß das von den Kohlen gebildete Gas Kohlensäure ist. Nimmt man eine Röhre, die länger ist als 760 mm, füllt sie mit Quecksilber, dreht sie ebenso unter Quecksilber um und läßt in ihr die Bohnen aufsteigen, so befinden sich diese in einem luftleeren Raum, da das Quecksilber auf 760 mm, entsprechend dem äußeren Luftdruck herabgesunken ist und in der Röhre ein Toricellisches Vakuum freigelassen hat. Nach einiger Zeit wird das Niveau des Quecksilbers um einige Zentimeter herabgedrückt sein, und hinaufsteigen gelassene Kalilauge wird uns auch hier wieder durch Absorption des Gases zeigen, daß dasselbe aus Kohlensäure bestand.

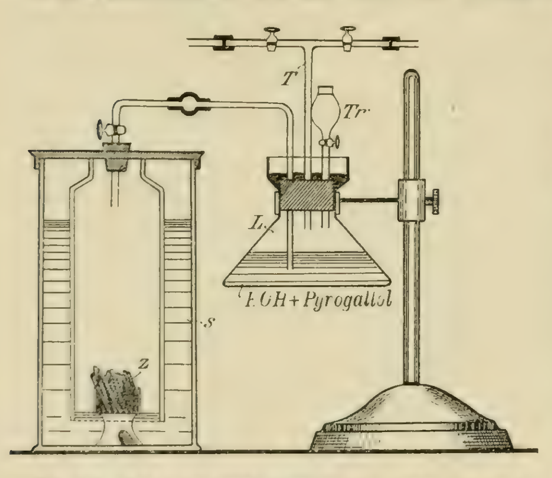


Fig. 119. Bardelebens Apparat für intramolekulare Atmung höherer Pflanzen.

Um *intramolekulare Atmung bei Pflanzen* oder Pflanzenteilen einzuleiten, muß man ihnen entweder die Sauerstoffzufuhr absperren oder durch das Kulturgefäß ein anderes, nicht atembares Gas durchleiten. Am geeignetsten ist für diesen Zweck Wasserstoff. In dem von Bardeleben angegebenen Apparate (Fig. 119) wird das Gas aus chemisch reinem (elektrolytisch gewonnenen) Zink *z* und fünffach verdünnter, reinster Schwefelsäure entwickelt; da aber chemisch reines Zink mit chemisch reiner Säure keinen Wasserstoff entstehen läßt, wird als Kontaktsubstanz etwas Platinchlorid hinzugefügt. Der entwickelte Wasserstoff wird aus *s* zunächst durch einen konischen, mit einer konzentrierten Lösung von alkalischem Pyrogallol beschickten Kolben *L* durchgeleitet, um ihn von jeder Spur Sauerstoff und Kohlensäure zu befreien. Der Kolben ist mit einem dreibohrigen Kautschukstöpsel verschlossen; dieser ist durchsetzt von einem bis auf den Boden des Kolbens reichenden, rechtwinklig gebogenen Glasrohr, durch welches das Gas zugeführt wird, in der

mittleren Bohrung steckt ein mit zwei Hähnen versehenes T-Rohr *T*, in der dritten Bohrung ein Einfülltrichter mit Glashahn *Tr*. Alle Glasverbindungen des Apparates, welche durch Kautschukschlauch hergestellt sind, werden durch dickwandige Schläuche bewirkt und stehen Glas an Glas. Der konische Kolben wird mit Kalilauge gefüllt, der Apparat mit dem Wasserstoffentwickler verbunden und nunmehr Wasserstoff eingeleitet, wodurch der Sauerstoff vollkommen verdrängt wird; jetzt schüttet man durch den Trichter die Pyrogallollösung hinzu, welche in dem sauerstofffreien Kolben auch nach monatelangem Gebrauch nur ganz schwach gefärbt bleibt. Auch der Bardelebensche Wasserstoffentwickler kann sehr lange Zeit benutzt werden, wenn man dafür sorgt, daß die gebildete konzentrierte und darum zu Boden sinkende Lösung vom Zinksulfat abgehebert und neue Schwefelsäure zugegossen wird. Der so gereinigte Wasserstoff gelangt nun in die mit Pflanzen bestandene Glocke, aus der er in einen Kohlensäureabsorbator, also eine Pettenkofersche Röhre oder einen Kaliapparat eintritt, um die in der intramolekularen Atmung entwickelte Kohlensäure abzugeben. Den so montierten Entwicklungsapparat kann man mittels des T-Rohres mit zwei Pflanzenglocken respektive, wenn man an jedem Arm des T-Rohres noch je ein T-Rohr anschaltet, mit vier solchen verbinden.

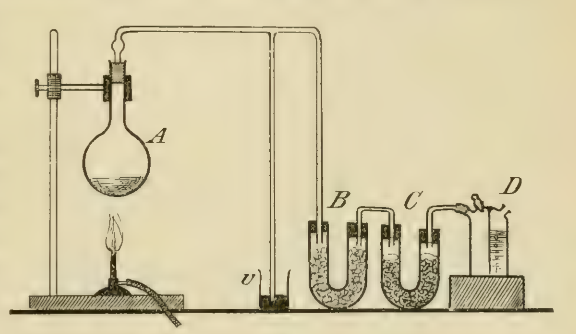


Fig. 120. Kostytschews Einrichtung zur Entwicklung von Stickstoff als Medium der intramolekularen Atmung.

Statt des Wasserstoffs kann man auch Stickstoff als neutrales Gas verwenden, den man durch Salmiaklösung aus Kalinitrit entwickelt. Die von Kostytschew dazu konstruierte Einrichtung (Fig. 120) besteht aus dem 500 ccm fassenden Rundkolben *A*, der mit einem Gemisch von 85 g reinstem Kalinitrit, 53,5 g Chlorammonium und 180 ccm Wasser beschickt ist; das Gemisch ist zweckmäßig vor dem Gebrauch eine Nacht über stehen zu lassen, weil dann die Entwicklung gleichmäßiger vor sich geht. Der Kolben wird durch direkte Bunsenflamme erhitzt, wobei aber der Flammenkegel selbst den Kolben nicht berühren darf; der Inhalt des Kolbens löst sich bald auf und es beginnt die Gasentwicklung, deren Lebhaftigkeit durch geringere Erwärmung oder Unterbrechen derselben abgeschwächt werden muß. Das Gas passiert dann zunächst das Waschgefäß *B*, welches mit konzentrierter Schwefelsäure getränkte Bimssteinstücke enthält, wo mitgerissenes Ammoniak, das während des Prozesses entstanden ist, zurückgehalten wird; das U-Rohr *C* ist mit Natronkalkstücken beschickt, um das entwickelte Chlor zurückzuhalten, und die Waschflasche *D*, welche konzentrierte Schwefelsäure enthält, dient hauptsächlich zur Kontrolle der Gasblasengeschwindigkeit, welche man durch Erwärmen, bzw. Abkühlen des Entwicklungskolbens erzielt. Ein Quecksilberventil am Kolben dient zur Entfernung eines eventuellen Gasüberschusses, wenn die Entwicklung zu stürmisch werden sollte. Der Gasstrom wird mit der Wasserstrahlpumpe in Gang gehalten. Immerhin erfordert der Apparat

beständige Aufsicht und man wird ihn, obwohl dadurch sehr reiner Stickstoff zur Entwicklung kommt, bei länger dauernden Versuchen durch eine Stickstoffbombe ersetzen, aus der das Gas zunächst in einen Gasometer geführt wird. Das Ableitungsrohr der Waschflasche *D* verbindet man durch einen mit Schraubenquetschhahn versehenen Vakuumschlauch mit dem zur Pflanzenglocke führenden Zuleitungsrohr. Das Ableitungsrohr der Glocke senkt man in Quecksilber oder in Öl ein und entwickelt nun Stickstoff. Wenn aller Sauerstoff aus der Glocke verdrängt ist, sperrt man den Schraubenquetschhahn, zieht den Schlauch vom Ableitungsrohr der Waschflasche *D* ab und füllt ihn mittels eines Trichters mit ausgezogener Spitze mit Quecksilber und setzt ihn auf das Ende des Rohres *C* der Absorptionsröhre auf. Mit Hilfe der Gaspipette werden nun von Zeit zu Zeit Gasproben entnommen, um die Kohlensäureausscheidung der Pflanze zu kontrollieren. Selbstredend muß für luftdichten Verschluß des Apparates und für die Abwesenheit jeder Spur Sauerstoff gesorgt sein, wovon man sich durch eine Gasprobe zu Beginn des Versuches überzeugt. Will man untersuchen, ob bei der intermolekularen Atmung

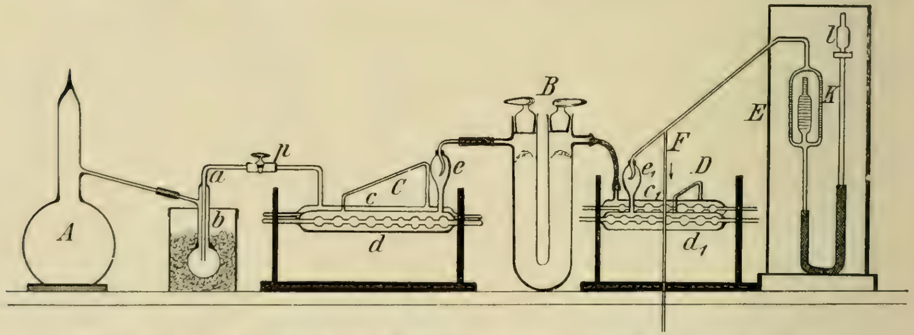


Fig. 121. Apparat von Nabokich für intramolekulare Atmung im luftleeren Raum.
c, d u. c_1, d_1 = Absorptionsgefäße; e u. e_1 = Vorstoß, um Schwefelsäure, bzw. Phosphorsäureanhydrid zurückzuhalten; l u. K = Quecksilberreservoir; E = Manometer.

neben Kohlensäure noch geringe Mengen anderer Gase entwickelt werden, so kann man im Kohlensäurestrom arbeiten (wodurch allerdings die Pflanzen wieder doppelt abnormalen Einflüssen ausgesetzt sind), indem man dieses Gas im Bardelebenschen Apparat aus Marmor und Salzsäure erzeugt, reinigt und durch die Pflanzenglocke leitet, worauf es in einem mit konzentrierter Kalilauge gefüllten Eudiometer aufgefangen wird; da die Kohlensäure hier zur Absorption gelangt, sammeln sich die nicht absorbierten Gase über der Lauge an und können analytisch bestimmt werden. *Statt ein neutrales Gas durchzuleiten*, bedient sich Nabokich für Versuche über intramolekulare Atmung des *luftleeren Raumes*[1]). Der dickwandige, beliebig große Rundkolben *A* (Fig. 121) wird mit den zu untersuchenden Pflanzenteilen beschickt, sein Hals dann am Gebläse zugeschmolzen und sämtliche Kolben mittels eines Sammelrohres *F* mit einer Vakuumpumpe verbunden. In unmittelbarer Verbindung mit dem Kolben befindet sich der in ein Gemisch von Schnee und Kochsalz versenkte Kühlapparat *b*, auf welchen die Trockensysteme *C* und *D* folgen; *C* ist mit konzentrierter Schwefelsäure, *D* mit trockenem Phosphorsäureanhydrid beschickt; das Kühlrohr *a* dient zur Schonung der Absorptionsmittel. Die Pumpe liefert infolge der vollkommenen

[1]) Nach W. Palladin und S. Kostytscher l. c.

Absorption des Wasserdampfes durch die Trockenröhren eine Luftverdünnung bis auf 0,25 mm Quecksilber, welche durch das Manometer *E* kontrolliert wird und in längstens einer halben Stunde erreicht ist. Nachdem die Luft vollkommen aus dem Kolben verdrängt ist, wird sein Ableitungsrohr am Gebläse zugeschmolzen und die intramolekulare Atmung kann vor sich gehen. Zur Bestimmung der gebildeten Atmungskohlensäure schaltet man zwischen die Röhren *C* und *D* das große U-Rohr *B* ein, das zwei Glashähne besitzt; dieses Rohr ist mit grobgepulvertem Natronkalk gefüllt, der mit gepulvertem Ätznatron bedeckt ist (am besten verwendet man, vorausgesetzt, daß die analytische Wage eine solche Belastung zu wägen gestattet, 300 g schwere Rohre, deren Füllung imstande ist, 25 g Kohlensäure zu absorbieren), ein zweites Rohr ist dann überflüssig, einem Wasserverlust ist durch den Überschuß an Ätznatron vorgebeugt. Nach dem Füllen wird das Rohr zwei- bis dreimal evakuiert und sodann genau gewogen. Das Rohr muß, da es an die Vakuumpumpe angeschaltet wird, dickwandig sein und wird nach Beendigung des Versuches wieder im evakuierten Zustande gewogen, die vollkommene Absorption der Kohlensäure wird durch das Manometer kontrolliert. Um nun die Kohlensäure aus dem Kolben in das Rohr überzuführen, verbindet man das ganze System samt dem abgeschmolzenen Kolben mit der Luftpumpe durch *F*, evakuiert zunächst die Absorptionsgefäße, was fünf Minuten in Anspruch nimmt, schließt dann den rückwärtigen Hahn des Rohres *B* und bricht dann das innerhalb des Kautschukschlauches befindliche, schon früher angefeilte Ende des Kolbenableitungsrohres innerhalb des Schlauches ab; der Schraubenquetschhahn *p* gestattet ein Regulieren des aus dem Kolben entweichenden Gases, Alkoholdampf wird im Kühler *a* zurückgehalten. Nachdem die Hauptmasse der Kohlensäure absorbiert ist, wird die Pumpe wieder in Tätigkeit gesetzt und so der letzte Rest des Gases in die Absorptionsgefäße übergeführt. Zur Ausführung einer Alkoholbestimmung geht man verschieden vor, je nachdem während des Versuches ein konstanter Gasstrom durchgeleitet oder das Experiment im luftleeren Raume vorgenommen wurde. Im ersteren Falle schaltet man zwischen Pflanzenglocke und die zur Absorption der Kohlensäure bestimmten Röhren eine in schmelzendes Eis versenkte, mit Wasser gefüllte Waschflasche, deren Ableitungsrohr aufwärts gerichtet und schlangenförmig gewunden ist. Nach Beendigung des Versuches (von da an ist die Behandlung des Versuchsmaterials dieselbe, wenn das Experiment im luftleeren Raume vor sich gegangen war) wird der Inhalt der Versuchsglocke oder des Versuchskolbens und der Waschflasche in einen geräumigen Destillationskolben hineingebracht, Glocke und Flasche mit Wasser nachgespült, der Kolben mit einer beträchtlichen Menge destillierten Wassers versetzt und nun so lange destilliert, bis etwa die Hälfte der Flüssigkeit in die Vorlage übergegangen ist. Das erhaltene Destillat wird von neuem destilliert, bis etwa die Hälfte der Flüssigkeit in die Vorlage übergegangen ist. Das erhaltene Destillat wird von neuem destilliert usf., bis man schließlich bei 50 ccm Destillat angelangt ist, welche man in einem gewogenen Kölbchen auffängt, so daß man das Gewicht der überdestillierten Flüssigkeit bestimmen kann, deren spezifisches Gewicht man pyknometrisch ermittelt. Ist das erste Destillat sauer, so setzt man, um schließlich eine neutrale Flüssigkeit zu erhalten, vor der zweiten Destillation etwas

Kalilauge oder Bleihydroxyd zu; ist die Reaktion alkalisch, so fügt man etwas Weinsäure hinzu; völlige Klarheit des Destillates erhält man, wenn man vor der zweiten Destillation den Destillierkolben etwas schief stellt, zur Verhinderung des Schäumens etwas Tannin zusetzt und schließlich eventuell das Destillat durch ein trockenes Filter filtriert. Das Destillat kann man natürlich nach den angegebenen Methoden qualitativ auf Alkohol prüfen, bevor man seine Menge ermittelt.

Da Palladin und Kostytschew das Auftreten kleiner Mengen von Azeton neben Alkohol bei der intramolekularen Atmung konstatiert haben, dieses Keton aber mit der Jodoformprobe reagiert, so muß man zunächst die Abwesenheit von Azeton etwa durch die Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure prüfen, und erst wenn diese negativ ausfällt, kann man zum Nachweis von Alkohol die Jodoformprobe anwenden. Fällt sie aber positiv aus, so kann man die entstandenen Aldehyde, respektive das Azeton in der Weise entfernen, daß man die Flüssigkeit mit einem Überschuß von Natriumbisulfit versetzt und bei gelinder Wärme so lange destilliert, bis die Hälfte der Flüssigkeit in die Vorlage übergegangen ist. Das Destillat versetzt man mit einem geringen Überschuß von Barytwasser und destilliert nochmals, worauf das Destillat aldehyd- und ketonfrei ist, da diese Verbindungen in Form von nicht flüchtigen additionellen Körpern zurückbleiben.

Zum Studium des Gaswechsels abgetöteter Pflanzen, in denen die Enzymarbeit fortwirkt, wird heute zumeist das Abtötungsverfahren Palladins[1]) durch niedere Temperaturen angewendet. Große, etwa 100 ccm fassende Reagenzgläser werden mit unversehrten oder zerstückten Pflanzen vollgefüllt und mit Kautschukstopfen gut verschlossen. Damit die Salzlösung in die Reagenzgläser nicht eindringt, beschmiert man die Pfropfen mit etwas Vaseline. Die Reagenzgläser werden in einen mit Filz bezogenen Eimer gebracht und mit einem Gemisch von Schnee oder feinzerkleinertem Eis, Natriumchlorid und Ammoniumnitrat umgeben. Man tut zuerst eine Schneeschicht von etwa 2—3 cm in den Eimer hinein, den Schnee bedeckt man mit einer Schicht des Salzgemisches und legt darauf die Reagenzgläser, wobei man die Zwischenräume zwischen den Reagenzgläsern mit Schnee füllt. Die Reagenzgläser deckt man mit einer Schneeschicht, dann mit einer Schicht des Salzgemisches, legt darauf wiederum Reagenzgläser usf. Die oberste Reihe der Reagenszgläser deckt man erst mit einer Schneeschicht, dann mit einer Schicht des Salzgemisches, schließlich mit Filz und stellt auf den Filz eine mit Schnee gefüllte Schale. Nach einer Stunde sinkt die Temperatur im Innern der Reagenzgläser bis auf —20 ⁰ C. Der mit den Reagenzgläsern versetzte Eimer wird in einem kalten Raume für 24 Stunden in aller Ruhe belassen. Nach Ablauf dieser Zeit steigt die Temperatur der Mischung, je nach den Temperaturverhältnissen des Raumes, auf — 10 ⁰ bis — 3 ⁰. Für die Abtötung von in der Periode starker Lebenstätigkeit begriffenen Samenpflanzen ist eine Temperatur von — 20 ⁰ bis — 25 ⁰ nötig. Nabokich verwendete für die Erfrierung der Pflanzen flüssige Kohlensäure; diese verflüchtigt sich aber sehr schnell; für eine vollkommene Abtötung der Pflanzen ist jedoch nicht so sehr der Grad als die Dauer der Temperaturerniedrigung von

[1]) W. Palladin, Zur Physiologie der Lipoide. Ber. d. d. bot. Ges. **28**, 120 (1910).

Belang. Auch ist es wichtig, daß die Reagenzgläser möglichst dicht gefüllt sind; eine Erfrierung der Pflanzen in denselben Rezipienten, die dann für den Versuch selbst dienen sollen, ist zu vermeiden; ist dies jedoch unvermeidlich, so muß man ein Thermometer in das Innere des Gefäßes einführen, da die Temperatur der Kältemischung mit derjenigen der zu erfrierenden Pflanzen nicht immer übereinstimmt. Für die Bestimmung der von den erfrorenen Pflanzen produzierten Kohlensäure tut man das Versuchsmaterial in ein U-Rohr hinein und legt in das vordere Ende des U-Rohres etwas mit 4 ccm Toluol getränkte Watte. Das die U-Röhre passierende Gas ist auf diese Weise mit Toluoldampf gesättigt, wodurch eine Entwicklung von Bakterien verhindert wird. Toluoldampf hat keinen Einfluß auf den Titer des zur Absorption der Kohlensäure bestimmten Barytwassers. So abgetötete Pflanzen erzeugen viel größere Mengen Kohlensäure als bloße Preßsäfte oder als Pflanzen, die nach Buchner durch Azetonäther abgetötet wurden, wofür sich die saftreichen Samenpflanzen überhaupt nicht eignen, die Pflanzen sind ferner in ihrer Zellstruktur unversehrt, was sehr wichtig ist, da Zerstörung der Zellstruktur oder Zerkleinerung der lebenden Pflanzen die Enzymarbeit beeinträchtigt; dagegen liefern trockene Pflanzenteile sehr wirksame Azetondauerpräparate. Wenn Weizenkeime mit verschiedenen Extraktionsmitteln in der Kälte behandelt und dann ihre Atmungsenergie bestimmt wurde, zeigte sich ein enger Zusammenhang derselben mit der Art des Extraktionsmittels, indem das betreffende Extraktionsmittel (Toluol, Azeton, Benzol, Äther, Chloroform usw.) um so schädlicher auf die Kohlensäureabscheidung der betreffenden Pflanzen wirkte, je mehr Phosphor es denselben entzieht, je mehr es also die Lipoide angreift.

Eine eigenartige Atmung zeigen auch bei normalem Luftzutritt die Sukkulenten, bei denen sich in der Nacht eine Erhöhung der Azidität des Zellsaftes unter Absorption von Sauerstoff zeigt, es wird hier nicht Kohlensäure und Wasser als Atmungsprodukt gebildet, sondern eine organische Säure als weniger hoch oxydiertes Zwischenprodukt der Atmung, entsprechend dem Alkohol bei der intramolekularen Zerspaltung. Ein Blatt von Rochea falcata oder von Bryophytum calicinum oder crenatum wird am Abend eines warmen Sommertages von der Pflanze abgeschnitten, in Stücke geteilt und in einer maßgeteilten Eprouvette mit Glaswolle befestigt; die Eprouvette wird umgekehrt in Wasser gestellt. Über Nacht zeigt sich ein beträchtliches Aufsteigen von Wasser in der Eprouvette als Beweis, daß Sauerstoff absorbiert, aber dafür nicht entsprechend Kohlensäure gebildet wurde; zugleich kann man durch Titration mit Sodalösung die Azidität bedeutend erhöht finden.

Für die Bestimmung der oberen oder unteren Temperaturgrenze, welche die Blätter von Pflanzen aushalten, ohne zugrunde zu gehen, sind am besten Pflanzen zu verwenden, welche durch Änderung ihrer Farbe die Beschädigung anzeigen, so z. B. Oxalis acetosella, welche sich dabei in Braun verfärbt. Man taucht Blätter von Oxalis in Wasser ein, das auf 25 ⁰ C erwärmt ist, senkt ein Thermometer hinein und erwärmt nun allmählich: die Verfärbung tritt bei 52 ⁰ C ein. Die Verfärbung ergibt sich aber schon einige Grade früher, wenn die Blätter mittels der Pumpe mit Wasser injiziert wurden; sie vermögen also in der Luft höhere Temperaturen zu ertragen als im Wasser, denn die mit Wasser erfüllten Gewebe nehmen offenbar die Temperatur des umgebenden Wassers schneller an als jene,

deren Interzellularen noch mit Luft erfüllt sind. Wenn der Zellsaft, z. B. durch Anthokyan, gefärbt ist, dringt der gefärbte Saft erst in dem Moment heraus, in welchem die Zelle getötet und das Protoplasma für den Farbstoff durchlässig geworden ist. Man kann also dieses Verhalten als Indikator für die Tötungstemperatur benutzen. Schnitte von roter Rübe, etwa 3—4 mm stark, werden vollkommen von aus angeschnittenen Zellen stammendem Safte freigewaschen und nun in das 25 grädige Wasser eingelegt, das nunmehr sehr langsam erwärmt wird; bei 55—57 ^{0} tritt eine Färbung des Wassers ein; noch genauer kann man die Erscheinung mittels eines heizbaren Objekttisches mikroskopisch verfolgen. Daß der Zellsaft auch bei Abkühlen auf niedere Temperatur eine Rolle spielt, haben namentlich die eingehenden Untersuchungen von M o l i s c h und von M a x i m o w gezeigt. Nach M o l i s c h kann der Zellsaft einer Pflanze zu Eis g e f r i e r e n , es zeigen sich Eisnadeln im Gewebe, ohne daß die Pflanze stirbt, wobei im extremen Fall allerdings ein Zerreißen des Gewebes durch die Eisbildung sich einstellt, welches den Tod der Pflanze bewirken kann; dagegen kann schon ohne Gefrieren Schädigung und Tod der Pflanze durch E r f r i e r e n oberhalb des Eispunktes stattfinden; ein solches Erfrieren beruht auf Verwelken, indem die Wurzeln bei dieser Temperatur zu wenig Wasser aufnehmen, um die fortdauernde Transpiration der Blätter zu decken; aber zahlreiche Gewächse warmer Gegenden erfrieren bei Wärmegraden über Null auch bei Ausschluß der Transpiration: in diesem Falle beruht das Erfrieren auf einer irreversiblen Verschiebung des kolloidalen Plasmagefüges. Wenn wir eine Gelatine erfrieren lassen, so beobachten wir an allen Stellen des Kolloids das Auskristallisieren von reinem Eis, zwischen welchem die ursprünglich homogene Gelatine nunmehr ein kompliziertes Maschenwerk bildet; man kann nach dem Verfahren von M o l i s c h so die schönsten Eisblumen dauernd konservieren, indem man einen Kolben mit Gelatine an den Wänden ausgießt, diese gefrieren läßt und nun den Kolben innen mit absolutem Alkohol benetzt. Nach dem Auftauen des Eises ist die Form der Eisblumen in dem Gelatinenetzwerk ausgeprägt. Beim Gefrieren wird also Wasser aus dem Kolloid herausgepreßt und ganz ähnlich verhalten sich die Kolloide der Zellen. Durch den Wasserentzug schrumpfen die Zellen, indem der Turgordruck abnimmt und die Zellgrenzen kollabieren. Sehr häufig zeigt sich das Phänomen der Unterkühlung, d. h. die Tatsache, daß Lösungen von Salzen in Wasser nicht bei ihrem Gefrierpunkt sich in Eis verwandeln, sondern auf mehrere Grade unter Null abgekühlt werden können ohne zu erstarren. Die geringste Erschütterung bewirkt dann unter rapider Erwärmung auf den Eispunkt das Erstarren. Eine solche Verzögerung des Gefrierens findet auch bei der Verteilung der Flüssigkeit in kapillaren Räumen statt, wie das ja beim Plasma ebenfalls der Fall ist. Filtrierpapier mit destilliertem Wasser angesogen, läßt sich auf — 4 ^{0} C unterkühlen, eine wassergetränkte Tonkugel auf — 7 ^{0}, Wasser in dünnen Kapillaren ist bei — 10 ^{0} noch flüssig. Deshalb gefriert das Wasser auch nicht zunächst in den Zellen, sondern in den Interzellularen, welche relativ weitlumige Kanäle vorstellen, wobei freilich durch die spitzigen Eiskristalle ein Zerreißen der Gewebe stattfinden kann. Haben sich aber in den Interzellularen Eisklumpen gebildet, dann ist die Gefahr des Gefrierens für den Plasmainhalt der Zelle selbst vermindert, denn das könnte nur unter Volumvergrößerung geschehen, die aber durch die

Eisschollen in den Interzellularen behindert wird. Der Tod der Pflanze tritt schon bei der Eisbildung, nicht wie man früher vielfach glaubte, beim schnellen Auftauen ein. Im Zustande der Unterkühlung können Pflanzen lange lebend erhalten werden, auch wenn die Temperatur tief unter den Todespunkt herabgeht, sterben aber dann sofort bei der Eisbildung, während also die Temperatur steigt.

Ganz ähnlich wie beim Tier wirken auch bei der Pflanze die Fette als Wärmespeicher. Wenn die Pflanze dem Winter entgegengeht, häuft sie eine große Menge Reservestoffe in ihren Depots auf; diese Reservestoffe werden nun durch ihre Lokalisierung gegen die Gefahr des Gefrierens möglichst geschützt, indem bei Bäumen die Stärke in den geschützten Zentralzylinder der Achse geleitet oder zum Teil in Zucker, zum Teil in Öl verwandelt wird. Das letztere hat Lidforß für alle wintergrünen Gewächse festgestellt; die fetten Öle verwandeln sich vor der Frühlingsmobilisierung wieder in Stärke. Nach der Theorie von Mez sind nämlich flüssige Stoffe „thermisch aktiv", d. h. bei ihrem Gefrieren tritt Wärmeentbindung ein, während die festen Stoffe „thermisch passiv" sind; eine große Menge fester Stoffe bedeutet also für die Pflanze beim Gefrieren eine Gefahr, der Besitz von flüssigen einen gewissen Schutz. Es wurde aber schon eingangs für die Inulinpflanze Cichorium Intybus gezeigt, daß mitunter die thermische Aktivität des Zellsaftes doch eine Gefahr für die Pflanze bedeuten kann, indem die Lösung wohl Wasser zurückhält und dadurch ein Schutz vor Erfrieren gegeben ist, daß aber gerade dadurch das Wasser für die Hydrolyse des Inulins erhalten bleibt, wodurch eine fortdauernde Verarbeitung des Reservekohlehydrates und dadurch ein Verarmen der Pflanze an Reservestoff gegeben ist. Fett und Zucker wirken gewissermaßen für den Fall der Kristallisation als Wärmespeicher und erschweren überdies die Unterkühlung. Bei den meisten Laubbäumen bleibt ein Teil der Stärke im Zentralzylinder zurück und nur ein Teil wird in der Rinde in Zucker umgesetzt; sie sind daher weniger beständig gegen Frost als die Nadeln der Nadelbäume, deren Zellinhalt während des Winters reichlich mit Fetttröpfchen erfüllt ist; auch die Birke ist ein Fettbaum unter den Laubhölzern. Eine Änderung der Stoffwechselvorgänge besteht im Süßwerden der Kartoffeln, welches im letzten Grunde auf eine Enzymverschiebung zurückzuführen ist, welche in Zusammenhang mit den geänderten Wasserverhältnissen steht. Da (physiologische) Trockenheit die Kondensationsvorgänge, Feuchtigkeit die Hydrolysen begünstigt, so wird durch die Kälte die Kondensation von Zucker zu Stärke gehemmt sein und überdies dürfte sich die vitale Zuckerverbrennung verlangsamen, so daß sich Zucker anhäuft. In demselben Sinn wirken Narkotika, wie Chloroform, Leuchtgas und, wie wir bereits gesehen haben, auch Formaldehyd. Entsprechend der Mezschen Regel gefrieren süß gewordene Kartoffeln erst bei niedrigeren Temperaturen als normale. Ebenso wie trockene Samen eine viel höhere Temperatur aushalten als gequollene, so auch lufttrockene Blätter und andere Pflanzenteile. Eine sehr merkwürdige Erscheinung ist die „Erkältung" von Topfpflanzen, die Schädigung von Pflanzen oder Pflanzenteilen, die nur ganz kurze Zeit, etwa eine Minute, der Einwirkung der Kälte ausgesetzt waren. Wird ein Exemplar von Begonia metallica, Tradescantia zebrina, Fittonia usw. bei —5° C nur quer über die Straße getragen, so zeigt es noch am selben Tage im Warmhaus braune

Flecken, die Blätter werden braun und gehen unter den Erscheinungen des Erfrierens, also durch Vertrocknen, zugrunde. Ein Zweig von Fittonia, der bei dieser Temperatur nur einmal in der Luft geschwenkt und dann im Warmhaus ins Wasser gestellt wurde, sah am Nachmittag welk, wie abgestorben aus, war aber am nächsten Tag wieder frisch; er hatte sich also „erkältet", konnte aber die Schädigung, welche vielleicht auf der durch Austritt von Wasser aus den Zellen in die Interzellularen geschaffenen Spannungsänderungen beruht, wieder überwinden.

XX. Treiben und Wachstumsförderung.

Die wenigsten Gewächse vermögen, wie Stellaria media, ununterbrochen zu vegetieren und der Samen kann in der Regel nicht, sowie er der Frucht entfallen ist, sofort wieder keimen: nicht nur die Ungunst der äußeren Verhältnisse hält den Vegetationsprozeß zurück, sondern die meisten Pflanzen, z. B. die Holzgewächse unseres Klimas stellen gegen den Herbst zu ihr Wachstum ein; die Blätter der Laubbäume werden abgeworfen und die Pflanzen machen eine sogenannte „Ruheperiode" durch, d. h. eine Zeit, in welcher sie meistens auch bei Versetzen in die günstigsten Vegetationsbedingungen nicht ohne weiteres zum Weitervegetieren zu bewegen sind. Erst bis die Ruheperiode abgeklungen hat, tritt wieder unter normalen Außenbedingungen Weiterentwicklung ein. So treiben Zweige der Linde, welche Anfang Oktober, unmittelbar nach dem herbstlichen Laubfall, abgeschnitten und im Warmhaus in ein Glas Wasser gestellt werden, selbst zu Beginn des März noch nicht aus; die Knospen desselben Zweiges treiben aber auch bei viel niedrigerer Temperatur, als sie das Warmhaus bietet, sobald die Ruheperiode beendigt ist [1]). Eine solche Ruheperiode, welche nicht nur bei oberirdischen Pflanzenteilen, sondern auch bei Zwiebeln, Knollen, Samen zu beobachten ist, kann nicht als Ruhe im eigentlichen Sinne des Wortes bezeichnet werden, wir müssen uns vielmehr vorstellen, daß unterdes tiefgehende chemische Veränderungen in der Pflanze sich vollziehen, als deren Resultat sich ein Zustand ergibt, aus dem heraus erst die Mobilisierung geeigneter Baustoffe einerseits und die Möglichkeit der Anlage neuer Teile anderseits mit Hilfe dieser Stoffe gegeben ist. Man darf sich aber nicht vorstellen, daß es sich beim Frühtreiben bloß um Entstehung von Stoffen handelt, daß also dabei nur Enzyme aktiviert werden, die aus höheren Komplexen wie Stärke, Eiweißstoffen usw. niedrigermolekulare, direkt verwendbare Baustoffe schaffen; die Treibverfahren sind also nicht nur als Reizprozesse oder Aktivatoren von Hydrolysenwasser aufzufassen, sondern der disponibel werdende Stoff muß auch in ganz bestimmter Weise zur Anlage neuer Teile verwendet werden. Das Sistieren der Vegetation bei Eintritt der kalten Jahreszeit und das „Wiedererwachen" im Frühling wiederholt sich in unseren Klimaten regelmäßig an den betreffenden Pflanzen und erscheint uns als Vegetationsrhythmus; die Ruhezeit ist aber nicht notwendig auf den Winter beschränkt, sondern kann auch bei vielen Knollen und Zwiebelgewächsen im Sommer eintreten und der Vegetationsrhythmus fällt namentlich bei den Pflanzen tropischer Gegenden mit dem Wechsel der Trocken- und Regenperioden zusammen. Die Ruheperiode der unterirdischen Pflanzenteile, um zunächst von diesen zu sprechen, kann

[1]) H. Molisch, Das Warmbad als Mittel zum Treiben der Pflanzen. Jena 1909.

verschiedene Dauer aufweisen. So keimen manche Kartoffelsorten, wenn sie im Herbst aus der Erde genommen und ins Treibhaus gebracht werden, nicht sofort, sondern erst im Februar; die Samen der Mistel keimen von selbst im Herbst und in den Wintermonaten nicht, wohl aber leicht im April; die Samen der Esche keimen in dem Jahre, in welchem sie entstanden sind und in dem darauffolgenden überhaupt nicht sondern erst im zweitnächsten Jahre. Die Ruheperiode ist in allen diesen Fällen so fest, daß sie durch Schaffung günstiger Wachstumsbedingungen, wie sie im Warmhaus gegeben sind, nicht überwunden werden kann. Diese Art von Ruheperiode nennt M o l i s c h die f r e i w i l l i g e. Eine andere Art der Ruhe ist eine aufgezwungene, wenn nämlich die Pflanzen durch ungünstige Wachstumsverhältnisse, z. B. durch Kälte, in der Entwicklung zurückgehalten werden, wenn man beispielsweise Maiglöckchenkeimlinge im Winter in einen Kühlraum bringt und sie hier bis zum nächsten Herbst beläßt: sie treiben nicht, obwohl das unter normalen Verhältnissen im Frühling geschehen wäre. Diese von außen aufgezwungene Ruhe ist eine u n f r e i w i l l i g e. Die Ruheperiode der Kätzchen der Haselnuß oder der Blütenknospen von Forsythia klingt schon Ende Dezember aus. Wenn diese Pflanzen trotzdem sich nach Neujahr im Freien noch nicht entwickeln, so trägt die niedrige Außentemperatur daran die Schuld. Die Ruhe der Pflanzen zeigt ferner zu verschiedenen Zeiten verschiedene Grade der Tiefe. J o h a n n s e n unterscheidet drei Phasen der Ruheperiode, nämlich Vorruhe, Mittelruhe und Nachruhe. Nach ihm ist die „ganze Periode der Ausdruck einer Schwingung: abnehmende Austreibfähigkeit — gänzliche Ruhe — zunehmende Austreibfähigkeit.“ Beim Flieder z. B. sind die Winterknospen von ihrer ersten Anlage bis etwa zum Hochsommer gewissermaßen in Vorruhe, dann folgt bis etwa Ende Oktober die Mittelruhe und schließlich die Nachruhe, aus welcher die Knospen Ende Dezember oder Anfangs Januar heraustreten, um von da an nur mehr „unfreiwillig“ durch Kälte an der Entwicklung gehindert zu werden. Während bei manchen Zweigen, wie bei Syringa, Forsythia, das Ausklingen der Ruhe sehr bald eintritt, stellt sich dieser Zeitpunkt bei der Linde und Rotbuche relativ spät ein, ja, die Ruheperiode kann bei verschiedenen Knospen eines und desselben Zweiges zu verschiedenen Zeiten abklingen, so die der männlichen Haselnußkätzchen schon im November, der weiblichen etwas später und der Laubknospen erst im März.

Man kann nun durch verschiedene Mittel die Ruheperiode abkürzen. Bei vielen Holzgewächsen können die jungen, noch gar nicht fertig ausgebildeten Knospen zum vorzeitigen Austreiben veranlaßt werden, wenn man ihre *Sprosse entblättert.* M o l i s c h hat solche systematische Entblätterungsversuche mit Zweigen vom Flieder und von der Hainbuche angestellt. Von Ende Mai bis Anfang Juni treiben vollends entlaubte Exemplare wieder aus und belauben sich reichlich, wenn auch mit kleineren Blättern; vom halben Juli an aber unterbleibt das Treiben fast ganz, vom 1. August völlig. Werden nur einzelne, 20 bis 100 cm lange Äste entblättert, während die übrige Hauptmenge der Äste belaubt bleibt, so findet, wenn die Entlaubung Ende Mai durchgeführt wird, ein Wiederaustreiben der inzwischen schon angelegten Winterknospen statt; das Austreiben erfolgt langsamer als bei total entlaubten Exemplaren, aber schon um Mitte Juni bewirkt eine teilweise Entblätterung kein oder fast kein Austreiben mehr.

Abkürzend auf die Ruheperiode wirkt ferner *niedrige Temperatur*. Kartoffelknollen, die von Müller, Thurgau, unmittelbar nach der Ernte in den Eiskeller gebracht wurden und hier 14 Tage bei einer Temperatur knapp über Null lagerten, waren imstande, sofort auszutreiben; Howard brachte die Zweige verschiedener Pflanzen 7—21 Tage in eine Temperatur von —6 bis 8° und sah dieselben früher austreiben als die normal gehaltenen Kontrollzweige; dagegen wirkt nach Molisch ein täglich erfolgender Wechsel zwischen Wärme und Kälte, selbst durch mehrere Monate fortgesetzt, auf das Austreiben ruhender Knospen nicht nur nicht begünstigend, sondern häufig schädlich ein. Nach Johannsen werden Sträucher oder Zweige während der Ruheperiode

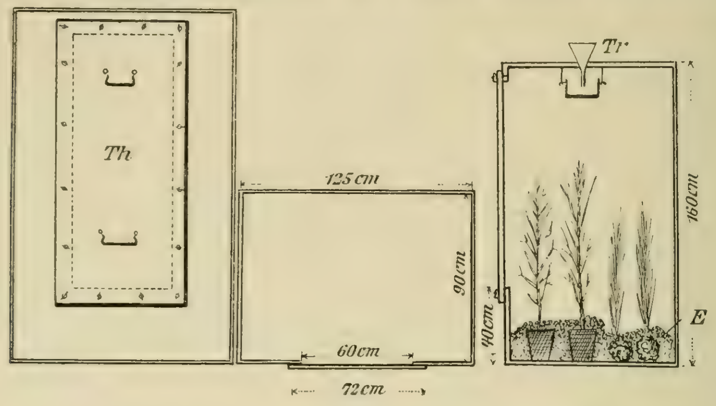


Fig. 122. Ätherisierungskasten nach Johannsen.[1])

der *Einwirkung von Ätherdampf* ausgesetzt. Als Ätherisierungsraum dienen luftdicht verschlossene Glas- oder Metallgefäße. Burgerstein[2]) verwendet Glaszylinder von 28 cdcm Rauminhalt zu Treibversuchen. Zur Bedeckung dient dann eine am Rande abgeschliffene und hier mit Talg bestrichene Scheibe aus dickem Glase, die fest angepreßt wird; außerdem wurde über den Glasdeckel ein Wachstuch in doppelter Lage gebunden und auf dieses zum Beschweren ein Gewicht gelegt. Für Versuche in größerem Maßstabe empfehlen sich große, festgefügte Holzkasten (Fig. 122 [*I*, *II*, *III*]), deren Innenwände mit Blech oder Stanniol ausgekleidet oder mit Chromleim glasiert sind; auch ein Wasserglasinnenanstrich ist zweckmäßig. In eine Seitenwand des Kastens ist eine Tür eingeschnitten, die herausgeschnittene Holzplatte ruht in einem Falz, der gut eingedichtet ist, und wird nach dem Einsetzen des Objektes in den Kasten durch Flügelschrauben möglichst luftdicht angepreßt (*I*). Die Dimensionen zeigt *II*. Man kann in die Öffnung auch eine Glasscheibe einkitten, damit die Versuche bei gleichzeitiger Belichtung ausgeführt

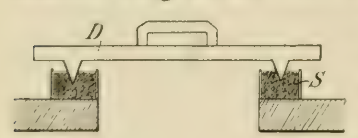


Fig. 123. Aymards Sandverschluß.

[1]) W. Johannsen, Das Ätherverfahren beim Frühtreiben usw. 2. Aufl. Jena 1900.

[2]) A. Bürgerstein, Über die Wirkung anästhesierender Substanzen auf einige Lebenserscheinungen der Pflanzen. Verh. d. zool.-bot. Ges. Wien, 56 (1906); s. auch das Referat dieses Forschers „Fortschritte in der Technik des Treibens der Pflanzen" im Progressus rei botanicae 4 (1911).

werden können. J. Aymard, Montpellier, hat für an der Oberseite *D* zu schließende Ätherisierungskasten einen Sandverschluß *S* (Fig. 123) empfohlen. In der Mitte der oberen Kastenwand ist ein Loch angebracht, durch das der Trichter *Tr* gestreckt ist, unter dem im Innern des Kastens das zur Aufnahme des Äthers bestimmte Gefäß hängt (die Manipulation mit Äther darf wegen der Explosionsgefahr natürlich niemals in der Nähe einer Flamme vorgenommen werden). Da der Ätherdampf infolge seines größeren spezifischen Gewichtes nach unten sinkt, muß das Äthergefäß stets im oberen Teil des Kastens angebracht sein. Das Loch im Kastendeckel ist mit einem Stöpsel verschließbar, in die Ätherschale wird ein Stück Watte oder ein Tuch gelegt, wodurch die Verdunstungsoberfläche vergrößert wird. Nachdem alle Öffnungen des Kastens gut verschlossen, eventuell mit Gips verschmiert sind, wird durch das obere Loch mittels des Trichters der Äther eingegossen und das Loch dann verstöpselt. Die Einwirkung des Äthers soll möglichst nur auf die oberirdischen Teile stattfinden, deshalb werden die dicht nebeneinander gestellten Töpfe ganz oder wenigstens zur halben Höhe mit trockenem Sand *E* bedeckt; abgesehen davon, daß der Sand die Wurzeln schützt, verstärkt er noch die Dichtigkeit des Kastens und absorbiert den Ätherüberschuß; er muß aber ganz trocken sein, weil sonst zu viel Äther eingesaugt wird. Beim Ätherisieren von Pflanzen aus dem Freiland werden die Wurzeln samt den Erdballen ganz mit Sand zugedeckt; die Erdballen müssen wohl feucht, aber nicht zu naß sein. Die Zweige können, wenn sie für den Kasten zu hoch sind, auch gebeugt, doch dürfen die Knospen nicht angestoßen werden. Die Äste der Topfpflanzen können auch zusammengebunden sein, um die Knospen beim späteren Herausnehmen aus dem Kasten besser zu schützen. Die Erde der Töpfe darf nicht zu kalt sein, die Töpfe müssen also vor dem Ätherisieren einen Tag in einem warmen Raum gestanden haben. Der Einfluß des Ätherdampfes ist um so gewaltsamer, je höher die Temperatur gehalten wird. Eine Ätherdosis, welche in 24 Stunden bei 0 ° C fast keine Wirkung ausübt, kann in derselben Zeit bei 30 ° C die Pflanzen ernstlich schädigen; die Temperaturintervalle beim Ätherisieren liegen zwischen 14 ° C bis 21 ° C, am besten wirkt eine Mitteltemperatur von 17 bis 19 ° C, bei 25 bis 30 ° C wirkt eine kleine Äthermenge vorteilhaft. Die Dauer der Ätherisierung und die Menge des Narkotikums hängen von der Pflanzenart oder Sorte, von der Phase der Ruheperiode, in welcher das Treiben vorgenommen wird, und von der Temperatur ab. Gegen Ende der Ruheperiode zu sind die Pflanzen auch gegen kleine Ätherdosen viel empfindlicher als vorher. Die Ätherdosis wird am besten nach dem inneren Raume des Kastens berechnet, wenn Sand benutzt wird, muß man die halbe Höhe der Sand- und Erdschicht (respektive der Sand- und Torfschicht) in Abzug bringen. Wenn also diese Schicht z. B. 14 cm hoch ist, werden von der inneren Höhe des Kastens 7 cm abgezogen, bevor man den Raum berechnet. Die Dosen variieren dann zwischen 30—45 g flüssigen Äthers für einen Hektoliter Luftraum; die Anzahl der Gramme mit 14 multipliziert ergibt die Anzahl der zu verwendenden Kubikzentimeter. Stehen die zu ätherisierenden Zweige in Wasser, so ist die große Absorptionsfähigkeit des Wassers gegenüber dem Äther zu berücksichtigen. Das Wasser nimmt pro Liter etwa 22 mal soviel Äther auf als die Luft. Will man also z. B. ein 10 Liter fassendes Zylinderglas als Ätherisierungsgefäß benutzen, so verwendet man 4 g Äther, also 0,4 g

pro Liter Luft für trocken zu ätherisierende Zweige. Soll aber Wasser dazukommen, so muß die Menge Wasser abgemessen und berücksichtigt werden, daß dem Wasser die 22 fache Äthermenge zuzusetzen ist, damit das Äthergleichgewicht Luft-Wasser hergestellt sei. Dem Wasser (es sei ein Liter verwendet) wird also vorher $22 \times 0,4 = 8,8$ g Äther zugesetzt, das Wasser mit dem Äther gut durchgeschüttelt und dann noch überdies für die übrigen neun Liter Luftraum des Gefäßes $9 \times 0,4 = 3,6$ g flüssigen Äthers genommen, die, auf ein Schwämmchen aufgetropft, im Luftraum aufgehängt werden. Bei Zimmertemperatur bedürfen im gut geschlossenen Kasten pro 100 Liter Luftraum Syringa im allgemeinen 35—40 g, Azalea mollis desgleichen, Viburnum Apulus 38—42 g, Tulpen (diese dürfen erst nach Beendigung der Wurzelentwicklung ätherisiert werden) 20—25 g Äther. Immergrüne Sträucher verlieren beim Ätherisieren ihre Blätter. Nach dem Herausnehmen aus dem Ätherkasten müssen die Pflanzen gut begossen und bespritzt und sofort in einen warmen Raum zum Treiben gebracht werden; ein zu langer Intervall zwischen Ätherisieren und Treiben kann bewirken, daß der durch den Äther bedingte Reizprozeß wieder abklingt. Indessen kann gute Ätherisierung mitunter eine Nachwirkung von einem Monat haben, indem in der Nachruhe narkotisierte Sträucher einen Monat treibfähig bleiben. In der Mittelruhe ist das Treiben selbst bei Anwendung der stärksten Ätherdosen resultatlos. Um die Verwendung von Wasser zu vermeiden, die Zweige aber doch feucht zu erhalten, kann man nach Burgerstein die frisch abgeschnittenen Zweige in kleine Bündel binden, das Schnittflächenende des Bündels mit feuchtem Moos umhüllen, dieses in Wachsleinwand einschlagen, dann verbinden und so ins Ätherisierungsgefäß stellen. Durchschnittlich läßt man den Ätherdampf 48 Stunden einwirken, im Anfang der Nachruhe und in der Vorruhe läßt man 72 Stunden, am Ende der Ruheperiode 24—30 Stunden einwirken; bisweilen kann man zweimalige je 48 stündige Ätherisierung mit 48 stündiger Unterbrechung anwenden; doch wirkt dieses Verfahren nur bei manchen Pflanzen, wie Platanus orientalis und Staphylea pinnata (nach Howard), günstig, bei anderen, wie Acer campestre, Tilia grandifolia und anderen, ungünstig. Ein 100—140 Stunden dauernder Aufenthalt in der Ätheratmosphäre schädigt die meisten Pflanzen empfindlich, ein fünf- bis sechstägiger tötet ausnahmslos. Gewöhnlich bilden bei ätherisierten Pflanzen die Blätter weniger Farbe aus. Die Ätherwirkung ist eine lokale, so daß man einzelne Zweige der Pflanze, die man vom Ätherisiertwerden ausschloß, am Frühtreiben verhindern kann, die Knospenentwicklung der Pflanze fällt dann natürlich höchst ungleich aus. Beim Treiben von Zwiebeln erzielte Aymard sehr gute Erfolge mit einem Gemisch von 20 g Äther und 5 g Chloroform pro 100 Liter Luft, wie überhaupt Chloroform dem Äther analog, nur viel stärker wirkt, so daß 6—9 g Chloroform für eine 48 stündige Chloroformierung in Betracht kommen, d. i. 4—6 ccm. Die Zwiebeln werden in Töpfe gesetzt und in frostfreiem Grunde belassen, bis sie angewurzelt sind und Triebe von 15 bis 20 mm Länge gebildet haben, und dann erst in den Ätherisierungsraum überführt.

Ein weiteres Treibverfahren besteht in der *Verwendung des Warmbades* (Fig. 124 und 125), welches in russischen und deutschen Gärtnereien schon längere Zeit mit Erfolg verwendet wird (siehe Molisch, „Das Warmbad als Mittel zum Treiben der Pflanzen“, Jena 1909); die wissen-

schaftliche Analyse des Verfahrens verdanken wir H. Molisch. Frisch abgeschnittene Zweige der Haselnuß und Forsythia suspensa wurden in Wasser von 30 ⁰ C untergetaucht und hier 9—12 Stunden belassen. Nach Ablauf dieser Zeit werden sie aus dem Bade herausgenommen, mit ihrer Basis in mit Wasser gefüllte Gläser gestellt und sodann im Warmhaus am Lichte bei einer Temperatur von 15—18 ⁰ C weiterkultiviert. Nach 8 Tagen zeigen sich die Kätzchen der gebadeten Zweige von 2,5 cm auf 5,5—7 cm verlängert und in voller Blüte, während die nicht gebadeten Kontrollexemplare unverändert sind; auch die Forsythiazweige stehen nach 11 Tagen in voller Blüte, während sich die ungebadeten erst 14 Tage später öffnen. Dieses Verfahren gelingt bei den meisten Holzgewächsen, doch verhalten sich nicht alle gleich, manche werden durch das Warmbad schnell und ausgiebig, andere mäßig und noch andere, wie Linde und Rotbuche, gar nicht oder erst gegen Ende der Ruheperiode beeinflußt. Der Erfolg hängt aber auch von der Dauer und Temperatur des Bades und der Tiefe der Ruhe ab; am besten wirkt ein 9—12 stündiges Bad, im Herbst und zu Beginn des Winters muß

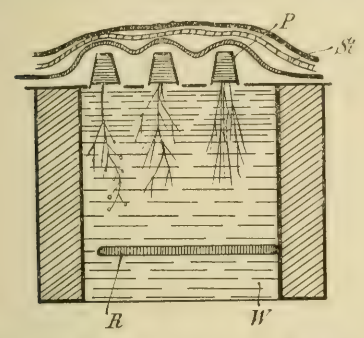


Fig. 124. Warmwasserbad nach Molisch. *R* = Dampfrohr; *W* = Wasser; *P* = Topfpflanzen; *St* = Strohmatte.

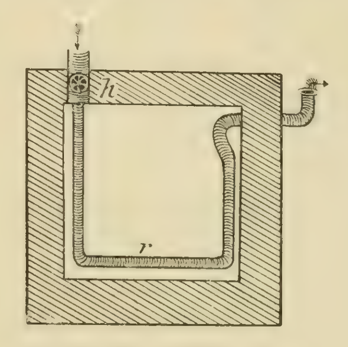


Fig. 125. Warmwasserbad nach Molisch. *h* = Hahn; *r* = Dampfrohr.

man länger baden als im Winter oder gar gegen Ausklingen der Ruhe; so genügen im Winter bei Corylus schon 6 oder nur 3 Stunden, und endlich kann das Bad sogar hemmend wirken. Dasselbe gilt für die Temperatur des Bades, die noch wirksame Minimaltemperatur ist 25 ⁰ C, die Maximalgrenze 40 ⁰ C. Auch hier ist der Einfluß ein ganz lokaler. Zur Durchführung des Warmbades benutzt man am besten kleine, zementierte, durch Dampfrohre heizbare Behälter, in welche, nachdem sie auf die gewünschte Temperatur gebracht sind, die zu treibenden Topfpflanzen, nachdem sie genügend begossen wurden, so hineinhängt, daß die Krone ganz unter Wasser taucht und der Blumentopf mit dem Wurzelballen in die Luft ragt. Zur Konstanterhaltung der Temperatur wird der Behälter mit schlechten Wärmeleitern umgeben. Die Wurzeln dürfen nicht mit untergetaucht werden, weil sie in der Regel viel empfindlicher gegen höhere Temperaturen sind als die resistenten oberirdischen Teile. Nach dem Bade kann man die Pflanzen sofort im Warmhaus zum Treiben aufstellen, aber auch hier pflegt die Reizwirkung des Bades mehrere Wochen latent erhalten zu bleiben. Von großer Bedeutung ist die Vorkultur; so kann die Dauer des Bades bei Syringa um so kürzer, seine Temperatur um so niedriger sein, je länger die

Pflanzen vorher in der Kälte verweilt hatten. In seinem Buche (l. c.) gibt Molisch die Resultate von Treibversuchen. Einen ähnlichen Erfolg gestattet auch die Verwendung von Wasserdämpfen zu erzielen, dagegen läßt sich das Warmbad in den meisten Fällen nicht durch ein entsprechendes Luftbad ersetzen; es ist also nicht die Wärme allein, sondern der Komplex von Umständen beim Warmbad: Erschwerung der Atmung unter Wasser, vielstündige Berührung mit dem warmen Wasser, Aufnahme von Wasser und dadurch hervorgerufene Quellung von Zellwänden und gewissen Zellinhaltsstoffen im Einvernehmen mit der höheren Temperatur, welche den Treiberfolg bewirken.

Ein weiteres Mittel, die Pflanzen zu treiben, ist, sie vorher niederer Temperatur auszusetzen. Man beläßt die betreffenden Pflanzen durch eine Woche in einem Raume, dessen Temperatur zwischen 3—5 ° C schwankt. Einige Stunden vor dem Herausnehmen wird die Temperatur, um das Auftauen zu begünstigen, gesteigert. Solche gekühlte Pflanzen lassen sich bei niedrigerer Temperatur schneller und besser treiben als die nicht behandelten. Auch Kombinationen von Frost und Ätherisieren wurden mit Erfolg versucht. Dagegen hat eine dreiwöchige Frostwirkung keinen günstigeren Effekt als eine einwöchige. Außer durch Frost kann man die Ruheperiode auch durch langsames Austrocknen in einem warmen, trockenen Raume abkürzen und die so behandelten Pflanzen oder ruhenden Organe zum schnelleren Austreiben veranlassen.

Molisch studierte den Einfluß des Radiums[1]) auf das Frühtreiben von Pflanzen, wie Winterknospen von Syringa, Aesculus Hippocastanum und anderen. Es wurden dreierlei Radiumpräparate verwendet: eines enthielt 46,2 mg reines Radiumchlorid, ein anderes 29,5 mg. Diese beiden waren in Glasröhrchen eingeschlossen, so daß nur die β- und γ-Strahlen zur Wirkung gelangten, während das dritte Präparat aus einem Lackscheibchen bestand, in dem das Radiumpräparat gleichmäßig ohne Glasbedeckung verteilt lag, so daß hier die α-Strahlen zur Wirkung kamen, welche einen Sättigungsstrom von 123,5 elektrostatischen Einheiten lieferten. Die Knospen der zusammengebundenen Zweige lagen in einer Ebene nebeneinander und wurden den Röhrchen direkt so aufgelegt, daß das Röhrchen in die Rinne zu liegen kam, welche durch die parallel stehenden Knospenpaare gebildet war. Nach der zirka 24 Stunden dauernden Bestrahlung wurden die Zweige direkt ins Warmhaus zum Austreiben im Lichte gebracht. Der Einfluß der Bestrahlung macht sich im Vorherbst nicht geltend, wohl aber zu einer Zeit, wo die Ruhe nicht mehr allzu fest ist; die Bestrahlung darf nicht zu kurz, aber auch nicht zu lang (nicht über 48 Stunden) dauern. Auch die Emanation hebt in einem gewissen Stadium der Ruhe (Dezember) die Wachstumshemmung auf, und veranlaßt ein frühzeitiges Austreiben, doch hört ihr Einfluß auf, sowie die Ruheperiode ausklingt, und kann in den entgegengesetzten umschlagen, das Wachstum also hemmen. Diese Förderung des Treibens durch Radiumpräparate und Emanation ist um so merkwürdiger, als ebenso starke Präparate auf Keimpflanzen gewöhnlich ganz anders wirken. Wiewohl Falta und

[1]) H. Molisch, Über den Einfluß der Radiumemanation auf die höhere Pflanze. Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien, **121** (1912); Über das Treiben von Pflanzen mittelst Radium, ebendas.

Schwarz einen intensiv fördernden Einfluß auf das Wachstum von Haferkeimlingen beobachtet hatten, die täglich erneuerter Emanation von 31 000—270 000 Macheeinheiten ausgesetzt waren, konnte Molisch im Gegensatz zu diesen Autoren bei keiner Konzentration einen günstigen Einfluß auf Wachstum und Entwicklung weder bei Hafer noch bei anderen Pflanzen beobachten, vielmehr war bei allen Pflanzen eine Schädigung wahrzunehmen, die sich entweder unmittelbar nach der Bestrahlung oder kurze Zeit danach durch gehemmtes Wachstum oder durch Absterben äußerte. Durch die Emanation wird ferner das Abwerfen des Laubes in hohem Grade gefördert, selbst im Frühling, also zu einer Zeit, wo normalerweise vom Laubfall keine Rede ist; die Emanation wirkt hier wie Lichtabschluß oder Unterdrückung der Transpiration als Reiz auf die Anlage und die Ausbildung der Trennungsschicht, veranlaßt also ganz lokal Gewebe zum Wachstum.

Von F. Weber[1]) stammt die Verletzungsmethode: Bei dieser ist die Tatsache, daß es sich beim Treiben um lokalisierte Wirkung handelt, bis ins Extrem verfolgt, denn da es nicht der Pflanzenorganismus als Ganzes ist, welcher bei der Treiberei Veränderungen erfährt, sondern nur die jeweils am Pflanzenkörper gereizten Partien, ging F. Weber von dem Gedanken aus, daß es genügen müßte, auch die einzelnen, in der Winterruhe verharrenden Knospen für sich allein zu reizen, um sie zur Entwicklung anzuregen.

An der Basis der zu behandelnden Knospe, dort, wo sich die Narbe des abgefallenen Blattes befindet, in dessen Achsel die Knospe zur Anlage kam, wird in dieselbe mit der Nadel der zu Injektionen in der Medizin gebräuchlichen Pravazschen Spritze ein Stich versetzt und 15 ccm Wasser, welche sich in der Spritze befinden, der Wunde injiziert. Ist die Knospe ziemlich groß, dann kann die Nadel horizontal durch die Mitte der Basis gestochen werden; ist sie aber sehr schmal, so würde die Spitze der Nadel an der anderen Seite der Knospe wieder nach außen dringen, und das Wasser könnte nicht in die Knospe gelangen; in diesem Falle ist es zweckmäßig, die Nadel ein wenig schräg nach aufwärts zu richten. Da die feine Nadelspitze sehr leicht durch Gewebeteile verstopft wird, empfiehlt es sich, vorher mit einer feinen Nadel den Einstich auszuführen und in diesen Stichkanal erst die Nadel der Spritze einzubringen. In allen Fällen macht sich durch den Turgor der Knospenzellen ein mehr oder weniger starker Widerstand gegen das Einpressen der Flüssigkeit fühlbar, der z. B. bei Acer platanoides oft fast unüberwindlich, bei Syringa vulgaris und Tilia platyphyllos relativ gering ist. Beim raschen Einpressen spritzt das Wasser an der Spitze der Knospe, dort, wo die Deckschuppen zusammenneigen, in feinem Strahle kräftig hervor, und man darf sich dadurch, daß die eingepreßte Flüssigkeit ein leichtes Auseinanderweichen der Deckblätter bedingt, nicht täuschen lassen und annehmen, daß unmittelbar nach der Injektion sich bereits ein Entwicklungserfolg geltend macht. Es wurde gewöhnliches Leitungswasser verwendet und festgestellt, daß ein Teil der eingepreßten Flüssigkeit tatsächlich von der Knospe aufgenommen wurde, mit dem Erfolg, daß so behandelte Knospen von Syringa vulgaris und Tilia platyphyllos in der Phase der Nachruhe zum Frühtreiben gebracht werden

[1]) F. Weber, Über die Abkürzung der Ruheperiode der Holzgewächse durch Verletzung der Knospen usw. Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien **120** (1911).

konnten und den unbehandelten Knospen um durchschnittlich drei Wochen in der Entwicklung vorauseilten. Für die Knospen von Tilia wurde festgestellt, daß die Verletzung durch den Stich allein, ohne nachfolgendes Einpressen von Wasser, den Frühtreiberfolg mit sich bringt, daß also die Verletzung an sich die Mobilisierung der Reserven bewirkt und dadurch in eine Parallele mit der Entblätterung zu stellen ist. Dagegen bleibt die bloße Verletzung durch Stich ohne Einpressen von Wasser bei Acer platanoides unwirksam; es dürfte also neben der Verletzung auch dem eingepreßten Wasser eine gewisse Rolle zukommen, und es dürfte sich hier ebenso wie beim Warmbad eben nicht um einen einzigen verursachenden Faktor, sondern um einen ganzen Komplex von Faktoren handeln. Nach Bos wirkt auch der galvanische Strom auf die Abkürzung der Ruheperiode hin.

F. Jesenko[1]) verwendet als Mittel zum Frühtreiben die Injektion verschiedener Flüssigkeiten, wie verdünnten Alkohol, Äther, Säuren usw., in die Knospen. Die Zweige werden in die betreffenden Lösungen entweder eingelegt oder mit denselben injiziert. Die Injektion geschieht an der Schnittfläche mit Hilfe eines zur Einpressung von Flüssigkeiten in abgeschnittene Sprosse eigens von Jesenko konstruierten Luftkessels (Fig. 126). Mit der Handluftpumpe P wurde bei geschlossenen Hähnen der Druck im Kessel K auf eine Atmosphäre gebracht, die mit dem Kessel in Verbindung stehenden Glasröhren T wurden mit der Lösung von Alkohol oder Äther, bzw. Wasser gefüllt, an ihr freies Ende mittels eines kurzen Vakuumschlauches der zu injizierende Zweig Z angesetzt und mit Drahtklammern befestigt. Luftblasen, die sich zwischen Zweigende und Flüssigkeit einschieben, werden durch Klopfen an dem Glasrohr herausgetrieben. Nun öffnet man die Hähne, worauf die komprimierte Luft die Lösungen unter konstantem Druck von einer Atmosphäre, durch das Manometer M meßbar, in die Zweige hineintreibt. Durch Abbrechen der Terminalknospe wurde ein rasches Durchdringen der Zweige mit den Lösungen (Alkohol wurde in den Konzentrationen 20 %, 10 %, 5 %, 1 %, 0,1 %, Äther in den Konzentrationen 10 %, 5 %, 1 %, 0,1 %, 0,001 % verwendet) erreicht. Nach der Injektion wurden die Zweige mit dem unteren Ende in Wassergläser gestellt und in ein lichtes Warmhaus gebracht. Zur Zeit der Ruhe, wenn die Entwicklungsprozesse in den Knospen erst eingeleitet werden, ist die Wirkung der Lösungen eine günstige und beschleunigt die Knospenentfaltungen, während die Knospenentwicklung verzögert oder ganz unterbunden wird, wenn die Knospen bereits aus der Ruhe getreten sind. Bessere Wirkung als die Injektion hat das Baden der betreffenden 20—30 cm langen Zweige, die mit 6—10 Stück zu einem Bündel zusammengebunden werden,

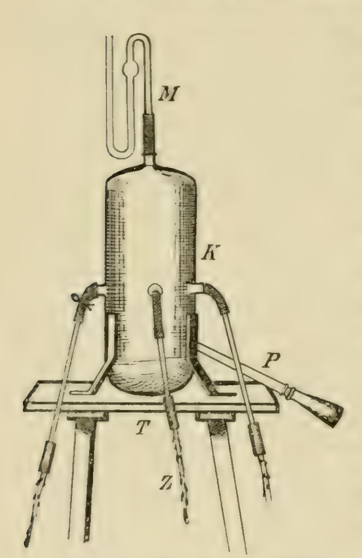


Fig. 126. Jesenkos Luftkessel.

[1]) F. Jesenko, Einige neue Verfahren, die Ruheperiode der Holzgewächse abzukürzen. Ber. d. d. bot. Ges. 29, 273 (1911), 30, 81 (1912).

in den betreffenden Lösungen, schon deshalb, weil so gleichzeitig eine größere Anzahl Knospen denselben Bedingungen ausgesetzt werden kann. Salzsäure und Schwefelsäure wurden dabei in Verdünnungen von 0,5 % bis 5 % verwendet. Die Zweigbündel wurden mit dem apikalen Ende nach abwärts in die Lösungen getaucht (während die Temperatur des Bades konstant auf 12—14 ^{0} C gehalten wurde), so daß ein kurzes Stück des basalen Endes und die Schnittfläche aus dem Bade hervorragten; die Lösung konnte demnach nicht im Holzkörper aufsteigen, sondern nur von außen her in die Knospen eindringen. Die Dauer des Bades variierte zwischen 3 und 12 Stunden. Nach dem Bade wurden die Zweigbündel mit der Basis in Wasser gestellt und ins Warmhaus gebracht. Es zeigte sich auch hier wieder eine günstige Wirkung anorganischer und organischer Säuren (Weinsäure) während der tiefen Ruhe in bezug auf Frühentwicklung, während am Ausgange der Ruheperiode nur ganz verdünnte Lösungen die Entwicklung beschleunigen, stärkere aber schaden. Eine höher konzentrierte Alkohol- oder Säurelösung, kürzere Zeit angewendet, wirkt bis zu einem gewissen Grade ähnlich wie eine schwache bei längerer Dauer der Einwirkung.

XXI. Wachstumsmessung.

Die Messung des Wachstums erfolgt bei schnell wachsenden Pflanzen durch Beobachtung der Verlängerung der Pflanze an einem neben dieser senkrecht aufgestellten Maßstab. Für die Demonstration des Wachstums verwendet Pfeffer als Objekt das 25—30 mm hohe erste Laubblatt des Keimlings von Avena oder Hordeum, das in eine kleine Küvette gebracht und kurz vor dem Versuche ganz unter Wasser gesetzt wird. Als fixe Marke dient der Schatten eines Stabes, den man so richtet, daß die fortwachsende Spitze diese Marke in kurzer Zeit erreicht. Die Spitze rückt bei zirka 4000 facher Vergrößerung in einer Minute um 60 mm vor, wenn der reale Zuwachs in dieser Zeit 0,015 mm beträgt. Zur bequemen Beobachtung aufrecht wachsender Pflanzen dient das Horizontalmikroskop, welches in vertikaler Richtung an einer Säule verschiebbar ist, während die feine Einstellung mittels Mikrometerschraube geschieht. Der Zuwachs kann an dem Okularmikrometer abgelesen werden.

Zur Messung des Dickenwachstums wird um die Pflanze ein feiner Draht geschlungen, dessen eines Ende unverrückbar fest ist, während das andere Ende sich bewegt, wobei die Bewegung direkt oder vergrößert an einem Hebelwerk verfolgt werden kann. Man kann es auch mit dem Horizontalmikroskop beobachten, indem man die Pflanze an einer Seite einer Widerlage unverrückbar anlegt und an der entgegengesetzten Seite eine Marke oder Metallspitze anbringt, deren Fortrücken man im Mikroskop verfolgt. Man kann ferner zwei Marken an der Peripherie anbringen und durch deren Auseinanderrücken das tangentiale Wachstum verfolgen. Wenn man die Marken derart wählt, daß der Unterschied zwischen Bogen und Sehne vernachlässigt werden kann, so ist es auch möglich, exakte Bestimmungen des Partialzuwachses auch an den sich krümmenden Pflanzenteilen zu erzielen. Biegsame Maßstäbe oder Benutzung von geteilten Kreisbogen gleicher Krümmung können ferner ebenfalls diesem Zwecke dienen. Tuschmarken werden entweder mit einem

feinen Pinsel oder mit Hilfe eines Systems von parallelen, über einen Kork gespannten Roßhaaren oder bei massiven Objekten mittels des Wiesnerschen Teilrädchens (Fig. 127) aufgetragen, dessen Zähne genau im Abstande von 1 mm voneinander angebracht sind. Als Farbstoff kann der eines gewöhnlichen Stempelkissens verwendet werden, der für die Pflanzen ganz unschädlich ist und der sehr distinkte und distinkt bleibende Marken aufzutragen gestattet, während die mit Tusche in 1 mm Abstand angebrachten Marken leicht bis zur Undeutlichkeit verfließen.

Die Instrumente zur Wachstumsmessung sind entweder solche, bei denen der Beobachter fortwährend zugegen sein muß, oder es sind selbstregistrierende Auxanometer. Wenn eine Saite an der Spitze eines Pflanzenstengels angebracht und über eine senkrecht oberhalb der Pflanze angebrachte Rolle geleitet wird und am anderen Ende der Saite ein Gewicht hängt, so zeigt das Herabsinken des Gewichtes in einer bestimmten Zeit die Verlängerung des Pflanzenstengels an. Die Saite muß aus fein geflochtener und nicht aus gedrehter Seide bestehen, weil die letztere durch die Luftfeuchtigkeit bedeutende Längenänderungen erfährt. Solche Änderungen können übrigens durch Einfetten derselben oder Bestreichen mit Wachs vermieden werden. Das Gewicht darf nicht schwerer sein als notwendig ist, um die Saite vollkommen straff anzuspannen, weil sonst das Wachstum beeinflußt werden könnte. An der Pflanze kann die Saite durch einen einfachen Knoten oder eine Schlinge befestigt werden; die Gefahr, daß durch die Schnur ein Einschnitt in den Stengel gemacht werden könnte, mag durch Anbringung eines Streifens von gummiertem Papier zwischen Schlinge und Stengel vermieden werden. Jede Schwellung oder Schrumpfung der Erde muß natürlich Fehler verursachen, daher muß die Pflanze vor dem Versuch gründlich gewässert werden, um dann während des ganzen Versuches unbegossen zu bleiben; selbst wenn über die Topferde keine wasserzurückhaltende Schicht gebreitet wird, bleibt der Zustand des Bodens den Versuch hindurch erhalten. Der gefährlichste Irrtum wird durch spontane oder heliotropische Krümmung hervorgerufen, so daß eine Beleuchtung der Pflanze mit Oberlicht am vorteilhaftesten wirkt; ist das nicht möglich, so kann durch einen unmittelbar hinter der Pflanze angebrachten Spiegel die Wirkung des Vorderlichtes vermieden werden; durch Seitenlicht sehr wenig beeinflußt wird der Blütenschaft von Narcissus. Die einfachste Art, den Weg des sinkenden Gewichtes zu verfolgen, ist, längs des Gewichtes eine Maßskala anzubringen. Ein Stück einer Bleiplatte, 15 × 20 mm, in der Mitte gefaltet, kann als Gewicht dienen und eine feine Nähnadel, die in die Falte horizontal gelegt wird und dort durch leichtes Hämmern festgefügt ist, dient als Zeiger, der das Wachstum auf 0,1 mm genau bestimmen läßt. Statt der horizontalen kann das Gewicht auch eine vertikale Nadel tragen, und ihr Abwärtssinken bringt die Nadel in Berührung mit Öl oder Quecksilber in einen Napf Q, der durch eine Mikrometerschraube S

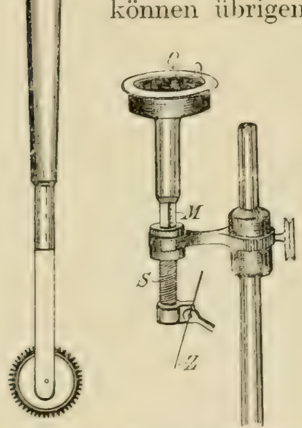


Fig. 127. Wiesners Teilrädchen.

Fig. 128. Mikrometerschraube zur Wachstumsmessung nach Darwin.

gehoben oder gesenkt werden kann (H. Darwin) (Fig. 128). Der Moment des Kontakts ist genau zu erkennen und man kann leicht 0,01 mm an M ablesen. Wenn Öl verwendet wird, muß das Gefäß zunächst so weit gesenkt werden, bis die Nadelspitze deutlich zu sehen ist, die Schraube wird dann vorsichtig gehoben, bis die blanke Öloberfläche am Berührungspunkt eingesenkt erscheint. Wenn Quecksilber verwendet wird, muß zwischen dasselbe und die Lichtquelle, ein vertikaler Faden oder Draht nahe am Mikrometer aufgehängt werden und der Moment der Berührung der Nadelspitze und des Quecksilbers ist durch Verschiebung des Fadenbildes gekennzeichnet, das durch Reflexion des Lichtes im Quecksilber entsteht. Der Apparat muß auf einer standfesten Platte stehen. Das Mikrometer trägt am unteren Ende eine Nadel, welche für verschiedene Messungen dienlich ist. Der Haken an der Kante der Tube kennzeichnet die Vertikalstellung der Schraube; wenn dies der Fall ist, bleibt die Spitze des Hakens in einer zur Oberfläche relativ konstanten Stellung, wenn die Schraube gedreht wird. Wenn die Tube gefüllt ist, so daß die Spitze gerade in die Oberfläche taucht, bleibt dieser Stand während der Drehung konstant erhalten.

Das selbstregistrierende Auxanometer von Wiesner (Fig. 129) funktioniert folgendermaßen: ein massiver Ständer aus Gußeisen trägt auf einer genau vertikalen Stahlsäule S einen mittels Schraube verstellbaren horizontalen Metallbalken, an welchem eine kleine aus Hartkautschuk verfertigte Rolle r drehbar befestigt ist, die mit einer gleichfalls aus Hartkautschuk hergestellten größeren Rolle R fix verbunden ist. Beide Rollen drehen sich konzentrisch um dieselbe Achse, welche aus Stahl verfertigt ist und in einem passenden soliden Lager läuft. Jede der beiden Rollen hat im Umfang eine rinnenförmige Vertiefung, welche zur Führung je eines Fadens dient. Einer der Fäden läuft um die kleine Rolle. Einfache Aufrollung genügt; größerer Sicherheit wegen kann man den Faden doppelt aufrollen, es ist dann aber selbstverständlich ein größeres spannendes Gewicht anzuwenden. Eines der beiden Enden dieses Fadens ist mit der Pflanze verbunden, das zweite trägt ein zur Spannung des Fadens dienendes Gewicht G. Auf der großen Rolle wickelt sich ein dieselbe in einem Halbkreis berührender zweiter Faden ab, welcher auf der einen Seite durch das Gewicht G, auf der anderen Seite durch das Zeigergewicht G' gespannt ist. Dieses Zeigergewicht ist T-förmig gestaltet, aus Hartkautschuk verfertigt und besitzt eine besondere vertikale Führung. Dieselbe besteht aus zwei genau vertikal gestellten, sorgfältig geglätteten zylindrischen Metallstäben, welche an prismatischen Hartkautschukstücken befestigt sind; diese selbst stehen wieder mit dem Balken so in Verbindung, daß er der Rolle möglichst nahe steht, ohne sie doch zu berühren. Das Zeigergewicht ist an vier Stellen durchbohrt behufs Durchlaß der zur Führung dienenden Metallstäbe. Die vordere breite Fläche des Zeigergewichtes steht senkrecht zur Fläche

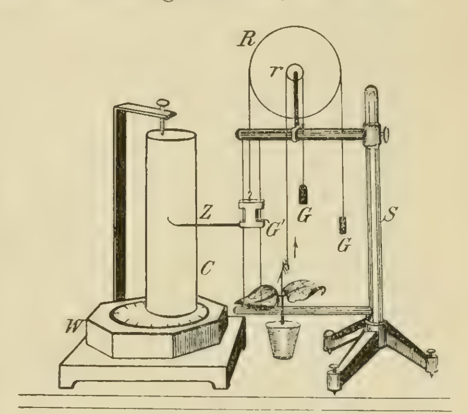


Fig. 129. Wiesners Auxanometer.

der Rollen. Von der Mitte des Zeigergewichtes geht ein zur Rollenfläche paralleler, horizontal gestellter, gegen den Zylinder in einer Horizontalebene vorgebogener, zugespitzter, 10 cm langer, als Zeiger dienender Platindraht *Z* aus. Zur Aufschreibung dient der Zylinder *C*, welcher exzentrisch auf dem Stundengehwerke *W* statt des Minutenzeigers mit hoher Führung aufgesetzt ist und sich innerhalb einer Stunde genau einmal umdreht. Der Halbmesser der kleinen Rolle beträgt 1,5 cm, jener der großen Rolle 12 cm. Da nun beim Aufwärtswachsen der Pflanze die große Rolle proportional der Höhenzunahme der Pflanze sich bewegt, so ist ersichtlich, daß das Auxanometer nur achtmalige Vergrößerung gibt, welche sich aber auch noch steigern läßt. Zur Spannung der Fäden dienen Gewichtchen von 7—10 g, welche Belastungen völlig ausreichen. Die Gewichte müssen sorgfältig gewählt sein, *G* muß *G'* völlig das Gleichgewicht halten und das andere Gewicht einen möglichst geringen Zug auf die Pflanze ausüben. Ist $g_1 = z_1$, so lastet auf der Pflanze bloß *g*. Das Zeigergewicht bewegt sich parallel zur vertikal wachsenden Pflanze, an deren Stengel der Faden angebracht ist, der über die kleine Rolle *r* gespannt ist, deren Bewegung die Zeigerrolle *R* sich bewegen läßt, so daß der Zeiger vertikal übereinanderliegende Marken schreibt, deren Abstände die stündlichen Zuwachse im Verhältnis von $r : R$ vergrößert angeben. Das Zeigergewicht legt einen Weg zurück, der achtmal so groß ist als der Zuwachs. Je nachdem man das eine oder andere Ende des Fadens der kleinen Rolle mit der Pflanze in Verbindung bringt, bewegt sich das Zeigergewicht nach aufwärts oder nach abwärts. Man umhüllt den auf *W* aufzusetzenden Zylinder mit einem dicht anliegenden Papier, welches an der Vorderseite berußt ist, zeichnet mit Nadel und Lineal die Vorderkante und stellt den ganzen Apparat so, daß der Zeiger an dieselbe leicht angedrückt ist. Nach je einer Stunde markiert der Zeiger an der Zylinderkante durch einen genau horizontalen Strich den vergrößerten Zuwachs.

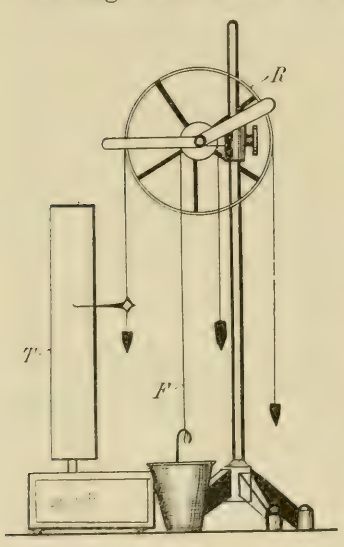


Fig. 139. Auxanometer nach Pfeffer.

Das selbstregistrierende Auxanometer von Sachs besteht aus zwei Hauptteilen, von denen der erste im Prinzip den Sachsschen später zu betrachtenden „Zeiger am Bogen" darstellt, der andere ein durch ein Uhrwerk langsam rotierender Zylinder ist, der ein berußtes Papier trägt, an welchem eine Zeigerspitze anliegt und so, ihrem jeweiligen Stande entsprechend, eine weiße Linie markiert. Die Drehungszeit des Zylinders läßt sich durch Verschiebung des Gewichtes am Pendel des Uhrwerkes regulieren. Der Bau und die Funktion des Apparates ist sehr einfach. Da der Apparat zahlreiche, z. T. schon von Sachs hervorgehobene Fehler zeigt und die Zuwachslinien keine richtigen proportionalen Werte geben, sei auf ein näheres Eingehen verzichtet. Der wichtigste (im Wiesnerschen Apparat vermiedene) Fehler ist, daß der Zeiger einen Kreisbogen (nicht eine vertikale, dem Zuwachs parallele Linie) beschreibt, daß der Zeiger nur bei horizontaler

Stellung mit dem exzentrisch rotierenden Zylinder Horizontallinien, in allen anderen Lagen aber selbst bei fixem Stande eigentümliche Reibungskurven verzeichnet, daß zur Vermeidung dieser Fehler ein großer, 90 cm im Umfang messender Zylinder und ein 60 cm langer Zeiger, ferner ein sehr großes Gewicht (20 g) verwendet werden muß, dessen Zug auf die Pflanze überdies nicht gleichmäßig ist, weil hier ein Zeiger und nicht, wie beim Wiesnerschen Apparat, durch die Rolle wieder eine Rolle bewegt wird. Die Messungen sind also hier nicht exakt quantitative.

Der von Pfeffer (Fig. 130) nach dem von Baranetzky angewendeten Prinzip konstruierte Apparat zeichnet mit dem Schreibzeiger dadurch eine Treppenkurve, daß der mit Papier überzogene berußte Zylinder *T*, je nach der Stellung des auslösenden Uhrwerkes, jede $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2 Stunden usw. eine kleine Drehung macht. Die so markierten Strecken

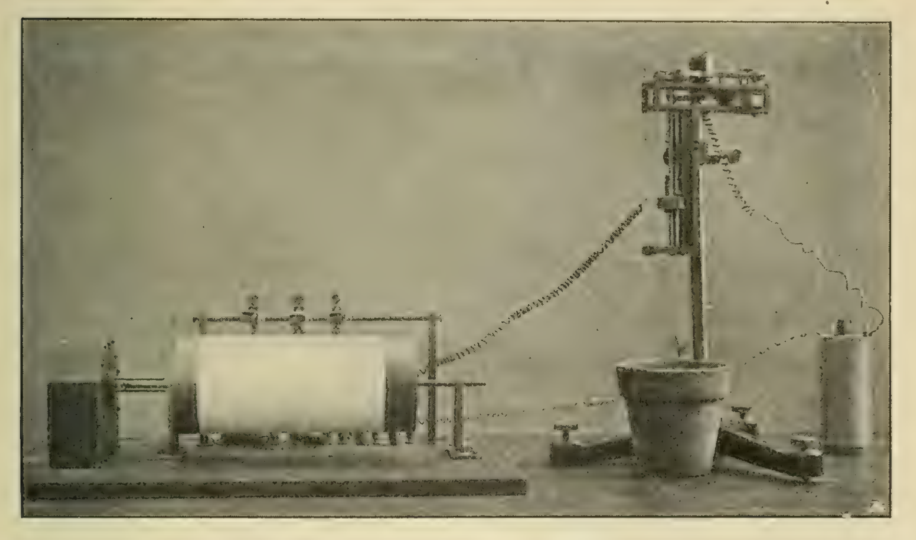


Fig. 131. Bovies Auxanometer.

geben also den realen Zuwachs im Verhältnis der kleineren Rolle zur Rolle *R* vergrößert an. Wenn der durch ein Uhrwerk betriebene Zylinder, sich kontinuierlich drehend, in der Stunde eine Umdrehung macht, so entsteht an seiner Peripherie eine Spirallinie, bei welcher der vertikale Abstand je zweier übereinanderliegender Linien den vergrößerten stündlichen Zuwachs angibt. Statt auf berußtem Papier kann man eine Schreibfeder mit Glyzerin-Anilinblautinte direkt auf Koordinatenpapier die Wachstumskurve schreiben lassen. Durch elektrische Übertragung kann man auch den registrierenden Apparat entfernt von der zu prüfenden Pflanze aufstellen, wie dies ja auch bei den Transpirationsmessungen geschieht. Das Uhrwerk, welches elektrisch betrieben ist, dreht den Zylinder *T*, auf dem der Zeiger schreibt. Im übrigen ist der von der Pflanze kommende Faden *F* oder Draht ebenso wie beim Wiesnerschen Auxanometer um die kleine Rolle geschlungen, welche ihrerseits das große Rad *R* in Bewegung setzt, während ein Gewicht dem Zeiger das Gleichgewicht hält.

Ein Auxanometer, welches vor allem die Fehlerquelle vermeidet, die durch Verlängerung oder Verkürzung des übertragenden Fadens gegeben ist, hat T. Bovie[1]) konstruiert, welches Instrument gleichzeitig den Vorteil bietet, auch den kleinsten Zuwachs zu registrieren. Der Apparat, dessen Gesamtansicht Fig. 131 darstellt, besteht im wesentlichen aus einer Vorrichtung, welche aufwärtsgedrückt wird, wenn die Pflanze wächst. Wenn diese Vorrichtung eine kleine Strecke aufwärts gegangen ist, schließt sie einen elektrischen Strom, der die Schreibfeder des Chronographen in Tätigkeit setzt. Da die Verbindung der Pflanze mit der stromschließenden Vorrichtung aus einem Metall hergestellt ist, das einen außerordentlich kleinen Ausdehnungskoeffizienten besitzt, kann das Wachstum auf wenige Mikra genau gemessen werden. Die Pflanze wird (Fig. 132) mittels des Metallfadens *a* an der kleinen Feder *b* befestigt, welche ein wenig stärker aufwärts schnellt als notwendig ist, um das Gewicht des Drahtes zu tragen, so daß der Faden immer straff gespannt ist (man kann den notwendigen Zug durch eine Schraube regulieren), aber doch dem Wachstum der Pflanze keinen Eintrag tut. Wenn die Feder nach aufwärtszieht, gelangt sie mit dem Block *c* an der Spitze *c'* in Berührung. Dadurch wird ein elektrischer Strom geschlossen, der bis dahin offen war, da beim Klaffen nämlich die Feder *b* von *c* an ihrem anderen Ende isoliert ist. Der Strom, welcher jetzt durch das System fließt, aktiviert die Spule *d*, welche den Unterbrecherhebel aufwärts zieht. Der Block *c* ist an der Schraube *f* befestigt, die durch ein Rädersystem bei *f'* mit einer Uhrfeder verbunden ist, welche die Schraube so zu drehen strebt, daß der Block *c* aufwärtsgehoben wird. Die Schraube wird aber an der Drehung durch den Unterbrecherhebel *e* gehindert, außer wenn derselbe durch den Elektromagneten *d* aufwärts gezogen wird, worauf sich die Schraube um einen Teil ihres Umfanges drehen kann. Dadurch wird der Block *c* eine bestimmte Strecke erhoben und der Strom geöffnet. Die Pflanze muß also dann gerade um dieses Stück wachsen, damit der Strom wieder geschlossen werde. Die Aufwärtsbewegung von Block *c* ist durch die Ganghöhe der Windungen der Schraube *f* und die Anzahl der Windungen begrenzt. Durch Veränderung der Zahl der Zähne im Unterbrecherrade an der Spitze der Schraube *f* kann die Größe ihrer Umdrehungen bei jedem Kontakt kontrolliert werden. Sind 20 Zähne an dem Rade vorhanden, so kann die Schraube $^1/_{20}$ Umdrehung machen, respektive mehr, wenn einige Zähne entfernt werden bis zur vollständigen Umdrehung. Ist die Ganghöhe der Schraube 0,5 mm, so repräsentiert jede Bewegung 25 μ. Um kleine Abstände zu messen, ist eine Mikrometerschraube höchst geeignet, wenn sie exakt gearbeitet ist (so leisten z. B. Phonographenschrauben gute Dienste). Der Unterbrecher muß so funktionieren, daß lediglich ein Zahn des Rades vorbeigehen kann,

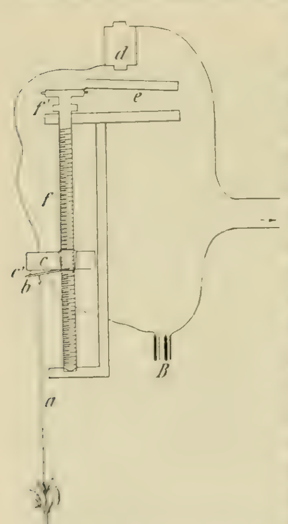


Fig. 132. Schematische Skizze des Bovieschen Auxanometers.

[1]) W. T. Bovie, A precision Auxanometer, Botan. Gazette 53, 504 (1912). Herrn Bovie bin ich für die Zusendung der Photographie seines Apparates zu großem Danke verpflichtet.

wenn der Strom einmal geschlossen wird. Die Trommel des Chronographen dreht sich einmal in sechs Stunden um sich selbst, 1 mm ihres Umfanges entspricht einer Zeitminute; sie kann die Aufschreibungen von sechs Auxanometern gleichzeitig aufnehmen und ihr Uhrwerk funktioniert ununterbrochen eine Woche. Die Federn sind unbeweglich, die Trommel rotiert unter ihnen in der Richtung ihrer eigenen Achse, so daß jede Feder auf dem Registrierstreifen eine Spirale zeichnet. Bei jeder Stromschließung markiert die Feder auf der gezogenen Linie einen Punkt. Wenn der Streifen abgenommen wird, zeigt er eine Serie paralleler Linien, von denen jede sechs Stunden entspricht. Durch Zählung der Punkte in einem bestimmten Zeitintervall oder durch Messung von deren Abständen kann das Maß des Wachstums bestimmt werden. Mittels eines kleinen Schaltbrettes kann eine elektrische Glocke oder Glühlampe in den Stromkreis eingeschaltet werden, so daß immer ein Zuwachs durch Aufleuchten der Lampe oder Glockenton registriert werden kann. Ist der Abstand so kurz, daß eine gewöhnliche Glühlampe nicht aufleuchtet, muß eine Wolframlampe verwendet werden. Ein wachsender Hyazinthensproß, der aus dem feuchten Warmhaus in die trockene Luft des Laboratoriums übertragen wurde, ließ die Lampe etwas öfter als einmal in der Minute aufleuchten, dagegen viel öfter, wenn die Pflanze im Warmhause belassen und nur der Registrierapparat, mit ihr in elektrischer Verbindung, im Laboratorium aufgestellt worden war. Ein junger Helianthuskeimling gab alle 18 Sekunden eine Markierung; in solchen Fällen, also bei sehr schnell wachsenden Pflanzen, wären bei Experimenten längerer Dauer die markierten Punkte zu zahlreich, um bequem gezählt zu werden, man entfernt dann also entsprechend viele Zähne des Rades. Das Prinzip, durch die wachsende Pflanze automatisch einen elektrischen Strom öffnen und schließen zu lassen, ermöglicht, die Messung des Längenwachstums mit großer Genauigkeit vorzunehmen. Die einzige Schwierigkeit ist, daß leicht zwischen der Feder *b* und dem Block *c* ein Funke überspringt. Um das zu verhindern, muß der Draht *a* nahe dem fixierten Ende der Feder *b* angebracht sein, so daß die Spalte länger ist als die Funkendistanz, oder es wird um die Spalte herum eine Kühlung angebracht, wodurch auch ein Abbrennen der Enden vermieden wird. Elektroden von Gold oder Platin geben die besten Resultate.

Um die Unbequemlichkeiten zu vermeiden, welche beim Arbeiten mit berußten Papieren Regel sind, ferner um ein Versagen der Schreibvorrichtung, wie sie bei den gewöhnlichen Auxanometern durch kleine Unebenheiten des Papiers, durch Luftströmungen gegeben sind, welche den Tragfaden der Feder in leichte Schwingung bringen oder die Feder abheben, bedient sich F. G. Kohl[1]) folgender Konstruktion. Die durch Uhrwerk *U* (Fig. 133) in beliebig rasche kontinuierliche oder intermittierende Umdrehung versetzte Trommel wird mit Zelluloidfilm überzogen, natürlich bei rotem Licht. Über die Trommel *T* stülpt man einen viereckigen Kasten *K*, der auf einem von der Trommelachse durchsetzten Tragbrett ruht. Damit das Aufsetzen dieses Kastens lichtdicht und immer in richtiger Stellung vor sich gehe, sind auf dem Tragbrett vier Leisten

[1]) F. G. Kohl, Ein neuer Apparat zur Demonstration von Wachstums- und Plasmolyse-Erscheinungen. Ein photographisches Auxanometer. Ber. d. d. bot. Ges. **20**, 208 (1902).

angebracht, an welche sich die unteren Ränder der Kastenseiten anlegen. In der einen Seitenwand des Kastens gleitet in einem Ausschnitt ein Schieber S aus dünnem Aluminiumblech oder aus Hartgummi, der etwa in der Mitte ein Loch von 1 mm Durchmesser trägt und diesem gegenüber in einiger Entfernung ein sehr kleines elektrisches Glühlämpchen L, welches sich mit dem Schieber, in fester Verbindung mit diesem, bewegt. Die lichtempfindliche Schicht des Films gleitet bei der Rotation der Trommel dicht hinter dem Schieber vorbei, denselben fast berührend. Der Schieber hängt an dem Faden oder Draht f (Fig. 133), welcher entweder nur über eine Nutenrolle läuft und dessen anderes Ende am Scheitel der wachsenden Pflanze befestigt ist, oder es ist eine Rollenübersetzung zur Vergrößerung des Ausschlages eingeschaltet, wobei der Schieber durch ein Gewicht balanciert wird. Die Anfangseinstellung des Schiebers wird so gewählt, daß das Loch eben unter dem oberen

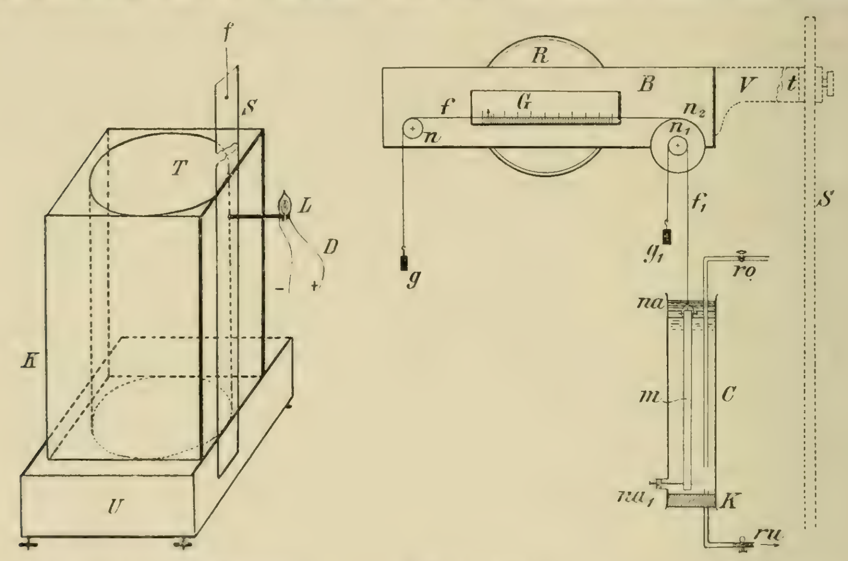


Fig. 133. Kohls Auxanometer.

Fig. 134. Apparat zur Demonstration von Wachtumsverlängerung und Verkürzung durch Plasmalyse.

Rande der Trommel steht, die Rotation läßt man dann sofort einsetzen. Bei Streckung der Versuchspflanze senkt sich der Schieber und das durch das Loch einfallende Tageslicht oder das Licht des Glühlämpchens malt die Wachstumskurve auf die empfindliche Filmschicht. Nach Beendigung des Versuches entwickelt und fixiert man die abgenommenen Films; sie zeigen auf glasklarem Grunde die schwarze Kurve und können nun auf Koordinatenpapier aufgesteckt werden, wo dann mit Hilfe der von den Quadraten auftretenden durchscheinenden Linien die Ablesung vorgenommen wird. Fig. 135 zeigt den Apparat aus Fig. 133 in der Aufsicht. Ein einfacher Apparat von Kohl (Fig. 134, 136) dient auch zur Demonstration nicht nur von Wachstumsverlängerung, sondern auch von Verkürzung durch Plasmolyse. Der Apparat besteht aus dem Brettchen B mit Ausschnitt, in welchem die Glasskala G eingelegt und befestigt werden kann. Das Brettchen trägt an jedem Ende eine Nutenrolle an horizontaler Achse, von denen die eine, n, einfach, die andere, $n_1 n_2$, zusammengesetzt ist und aus zwei fest miteinander ver-

bundenen Rollen besteht, deren Durchmesser in einem einfachen konstanten Verhältnis zueinander stehen. Über die linke kleine Rolle n und über die rechte größere n_1 läuft ein horizontaler Faden oder feiner Draht f, dessen linkes Ende das kleine Spanngewicht g trägt, dessen rechtes Ende an einem Punkte der Peripherie der großen Rolle n_1 befestigt ist. Die Rollen sind leicht drehbar so angebracht, daß der Faden genau in der Mitte der Vorderseite des Brettchens, also auch genau in der hier liegenden Skala verläuft. Über die kleinere der zusammengesetzten Rollen wird ein zweiter, durch das Gewicht g_1 gespannter Faden gelegt (f_1), dessen zweites Ende am Gipfel des wachsenden Pflanzenorgans oder am oberen Ende des zu plasmolysierenden Pflanzenteils befestigt ist. Die geringste Verschiebung dieses Endes ruft eine Drehung der Rolle n_1 und der mit ihr fest vereinigten Rolle n_2 und eine Bewegung des horizontalen Fadens von rechts nach links oder umgekehrt hervor. An diesem Faden ist ein kleiner Zeiger angebracht, der mit der Spitze der Glasschale anliegt und auf ihr hingleitet, wenn der tragende Faden durch die Drehung der Doppelrolle, welche von der Pflanze veranlaßt wird, eine Bewegung macht. Das Brettchen B trägt auf seiner Rückseite den Rohransatz R, den man unmittelbar über die Beleuchtungslinsen des Projektions-

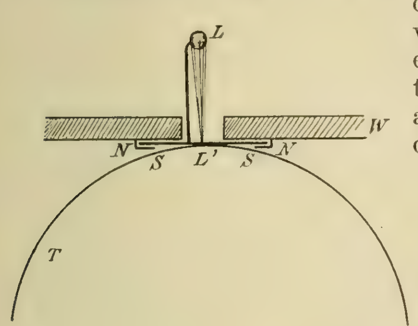


Fig. 135. Kohls Auxanometer in der Aufsicht. T = Trommel; SS = Spalt; LL^1 = Licktkegel; NN = Befestigungsrinne.

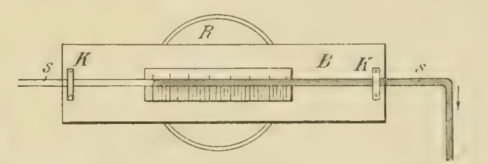


Fig. 136. Meßbrücke des Kohlschen Apparates Fig. 134.

apparates schiebt, oder es ist an der einen Seite verlängert. Die Verlängerung V endigt mit einem Rohre t, welches auf dem Stab S eines Stativs gleitet und in beliebiger Höhe fixiert werden kann. Das Skioptikon projiziert die Skala scharf auf den Schirm, auf welchem demonstriert werden kann, wie der Zeiger über die Skala gleitet. In Fig. 134 wird die Anordnung zur plasmolytischen Verkürzung eines Markzylinders wiedergegeben. Der Faden f_1 ist am oberen Ende des Markzylinders m durch die Nadel na und eine Schlinge befestigt; am unteren Ende wird der Markzylinder durch die seitlich in den Zylinder C eingeführte Nadel na_1 fixiert. Das den Zylinder ausfüllende Wasser kann durch das Rohr ru abgelassen, die plasmolysierende Lösung durch das Rohr ro zugeführt werden; man läßt die plasmolysierende Lösung zufließen, wenn die Verkürzung gezeigt werden soll, und nach Ablassen der Lösung Wasser, wenn man die Wiederverlängerung demonstrieren will. Für Demonstration der Zuwachsbewegung wird der Faden f_1 am Scheitel des wachsenden Stengels befestigt. Auch der Verbrauch an Wasser durch Transpiration läßt sich zeigen, indem das Saugrohr ss des Transpirationsapparates (Fig. 136), dessen Wasser zur besseren Anschaulichkeit gefärbt wird, durch zwei Klammern KK am Brettchen B oberhalb der Nutenrollen über die Skala gelegt und das Rohr solange verschoben wird, bis der Meniskus der gefärbten Flüssigkeitssäule auf den Nullpunkt der Skala

zu liegen kommt. Kohl führt folgendes Beispiel an: ein aus einer Kartoffelknolle ausgebohrter Gewebezylinder von 100 mm Länge verkürzte sich in 16 prozentiger Zuckerlösung bei 20 ° C in einer Stunde um 4 mm; stehen nun die beiden Rollendurchmesser $n_1 : n_2$ im Verhältnis 1 : 3, so wird der Zeiger auf der Skala um 12 mm verschoben; bei einer Entfernung des Projektionsschirmes vom Skioptikon von 4 m betrug auf jenem der Weg des Zeigerbildes 480 mm, also fast einen halben Meter. Bei der Demonstration von Verlängerung durch Wachstum empfiehlt es sich, die Durchmesser der beiden Nutenrollen mehr voneinander abweichen zu lassen. Wählt man z. B. das Verhältnis der Durchmesser 1 : 6 und wächst das Versuchsobjekt innerhalb einer Stunde nur 1 mm, so bewegt sich unser Zeigerbild immer noch um 240 mm über die Skala. Hat dieselbe in Wirklichkeit eine Zweimillimeterteilung, so erscheinen die Teilstriche auf der Projektionsfläche um 8 cm voneinander entfernt, bei 1mm Teilung um 4 cm und in letzterem Falle streicht der Zeiger auf dem Projektionsschirm über sechs Teilstriche der Skala innerhalb einer Stunde hinweg. Durch die Wahl der Übersetzungsgröße zwischen den beiden Nutenrollen $n_1 n_2$ kann man den Ausschlag auf der Skala den jeweiligen Umständen beliebig anpassen. Einige Vorversuche klären darüber auf und man braucht nur das Rollenpaar ein für allemal für jeden Apparat (Transpirationsapparat, Wurzeldruckapparat usw.) zu bezeichnen, um bei Anwendung annähernd gleicher Objekte dieselben Erfolge zu erzielen.

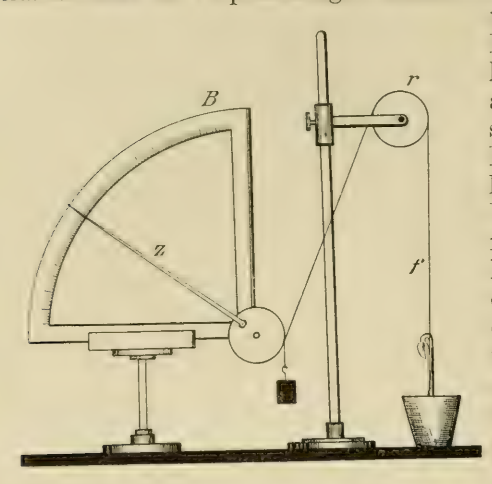


Fig. 137. ¼ Zeiger am Bogen.

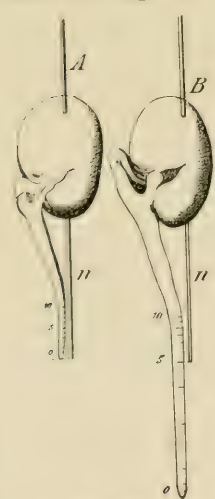


Fig. 138. Die Samen *A* und *B* sind an ihren Kotyledonen durch die Nadeln *n* befestigt und von den Spitzen angefangen mit Marken (*A*) in gleichmäßigen Abständen versehen, die in *B*, entsprechend der großen Periode des Wachstums, auseinanderrücken.

Das einfachste Auxanometer ist der Sachssche Zeiger am Bogen (Fig. 137): Ein von der Pflanzenspitze ausgehender Seidenfaden *f* geht über eine kleine Rolle *r* und wird durch ein kleines Gewicht gespannt gehalten. An einer leicht drehbaren Achse ist außer der Rolle noch ein langer Zeiger *Z* angebracht, der an einer Skala *B* spielt. Jede Verlängerung der Pflanze bewirkt eine Drehung der Rolle und damit eine Bewegung des Zeigers längs der Skala, welche die Verlängerung zu Demonstrationszwecken anzeigen kann.

Für die Messung des Wachstums von Wurzeln (Fig. 138) ist noch heute die Methode von Sachs vorbildlich, deren Schilderung der genannte Forscher folgendermaßen gibt: Die Samen (von Vicia Faba oder Phaseolus multiflorus) werden zunächst 24—30 Stunden

in Leitungswasser liegen gelassen, das man während dieser Zeit zwei- bis dreimal erneuert, wobei durch Bürsten den Samen anhaftende Fäulnisstoffe usw. entfernt werden. Noch vor dem Hervortreten der Hauptwurzel werden die Samen in feuchte Sägespäne gelegt, die vorher jedesmal zwischen den Handflächen zerrieben und zu einem möglichst lockeren Keimlager in großen Holzkasten zubereitet werden; dadurch werden einerseits gerade Wurzeln, andererseits genügende Durchlüftung erzielt und so Schimmelbildung vermieden. Die großen Samen, wie die von Faba, Phaseolus, Aesculus, Quercus, Cucurbita, werden immer einzeln ausgelegt; die von Faba so mit der Mikropyle abwärts, daß die austretende Hauptwurzel keine Krümmung zu machen braucht, um senkrecht hinabzuwachsen; die anderen legt man horizontal, so daß die Wurzel nach ihrem Austritt einen rechten Winkel mit der Längsachse des Samens bildet; kleine Samen werden einfach ausgestreut und gleich jenen mit Sägespänen bedeckt. Beim Herausnehmen aus den Sägespänen werden die Keimpflanzen sofort in reines Brunnenwasser gelegt und sorgfältig gewaschen, sie dürfen aber nicht zu lange mit dem Wasser in Berührung bleiben, weil sonst die Wurzelspitze leicht erkrankt; man kann beobachten, daß Wurzeln, deren Haube zu einer gummiähnlichen, gelatinösen Masse aufquillt, bald zu wachsen aufhören und erkranken.

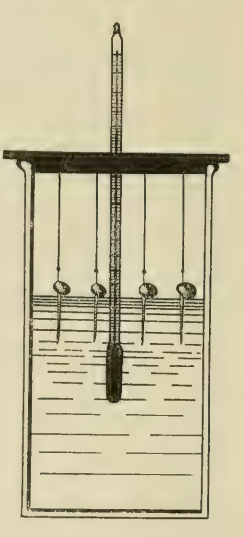


Fig. 139. Sachsscher Zylinder für Erzielung des Wachstums in Wasser.

Um die Wurzeln in feuchter Luft oder in Wasser wachsen zu lassen, werden große Präparatenzylinder mit eingeriebenem Deckel verwendet, deren Deckelhohlraum mit Kork ausgekleidet ist; die Korkplatte ist während des Versuches stets feucht zu halten und kann, wenn sich Schimmel ansetzen sollte, durch Abflammen leicht gereinigt werden. An dieser Korkscheibe werden nun die Keimpflanzen mit langen, reinen, nicht verrosteten Stecknadeln befestigt. Sollen die Wurzeln in Wasser wachsen, so werden zwei Drittel des Zylinderraumes mit Wasser angefüllt, während noch 1 Liter Luft frei bleibt (Fig. 139); die Samen müssen, wenn die Wurzeln gesund bleiben sollen, so angesteckt werden, daß die Kotyledonen sich über dem Wasser in der Luft befinden. Kommt es darauf an, die Wurzeln in feuchter Luft wachsen zu lassen, so wird nur der Boden des Zylinders mit Wasser bedeckt und die Wände mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleidet. Innerhalb des Zylinders ist noch ein in Zehntel geteiltes Thermometer aufzuhängen. Das Wasser wird, um sich in seiner Temperatur mit der Umgebung auszugleichen, einen Tag vor dem Versuch in den Zylinder gebracht.

Um das Wachstum der Wurzeln aber auch in ihrem eigentlichen Element, der Erde, verfolgen zu können, dient der Sachssche Keimkasten (Fig. 11 auf pag. 54), dessen Seitenwände aus Glas oder dünnen Glimmerplatten nicht senkrecht stehen, sondern unter einem Winkel von 10° gegen den Horizont geneigt sind. Das Gestell des Kastens, in den die durchsichtigen Platten eingelassen sind, besteht aus starkem Zinkblech, ebenso wie der Deckel, der die obere Öffnung mit übergreifenden Rändern schließt; der Boden des Kastens, seine metallenen Wände sowie der Deckel sind mit zahlreichen Luftlöchern versehen. Zur Beobachtung des Wachs-

tums der Nebenwurzeln braucht man natürlich Kästen mit viel breiteren und höheren Seitenwänden, während das Wachstum der Hauptwurzel allein schon in viel niedrigeren und schmäleren Keimkästen verfolgt werden kann. Jedenfalls wähle man aber relativ dünnes, durchsichtiges Material, wenn man Form und Partialzuwachs der Wurzel zu bestimmen wünscht, da man nur so den an der Außenwand angelegten Maßstab sicher ablesen kann. Die in die Kasten einzufüllende schwarze humose Gartenerde wird vor dem Gebrauche soweit angefeuchtet, daß sie sich zwischen den Händen zu einer feinkrümeligen Masse zerreiben läßt, dann gesiebt und eingefüllt. Ein Begießen in den nächsten Tagen ist dann überflüssig und könnte den Versuch nur stören, die Erde ist nur einzurütteln, nicht festzudrücken und muß vor jedem Versuche neu eingefüllt, die Scheiben gewaschen werden. In die nicht ganz gefüllten Kasten werden nun die keimenden Samen so gesteckt oder gelegt, daß gleich anfangs die Hauptwurzel der durchsichtigen Wand dicht anliegt; da sie immer senkrecht abwärts zu wachsen sucht, legt sie sich an die geneigte Wand immer fester an und bleibt sichtbar; daß sie an der Fensterseite von Erde entblößt ist, tut dem normalen Wachstum keinen Eintrag. Glaszylinder oder Erdkasten werden, um den Einfluß des Lichtes und des Temperaturwechsels auszuschließen, in geräumige, gleichmäßig temperierte, innen geschwärzte Holzschränke gestellt.

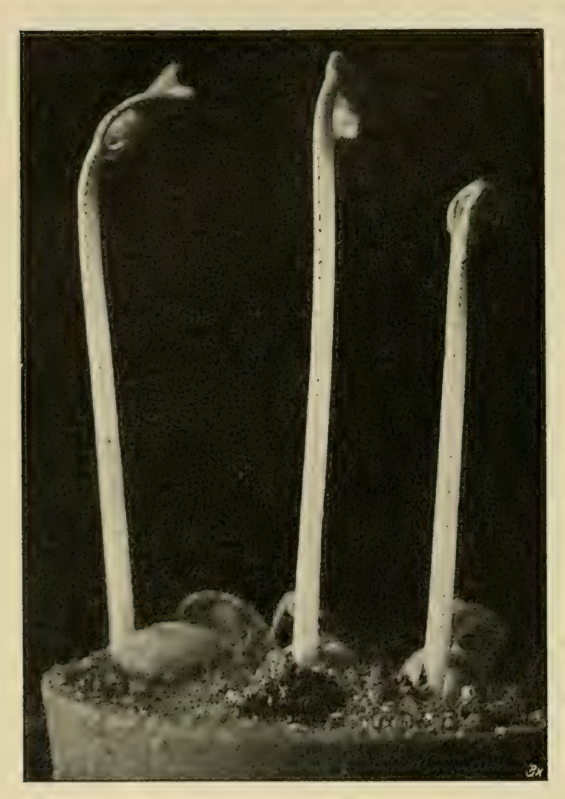


Fig. 140. Wachstumsmarken an Stengelorganen. (O. Richter.)

Zur Markierung der Wurzeln wird chinesische Tusche oder, wie schon erwähnt, die Tinte der Patentstempelkissen verwendet, die den Vorteil bietet, auf der Wurzel nicht zu fließen. Man kann die Tusche auf einer Porzellanplatte mit Wasser anreiben und dann mittels eines steifen, sehr spitzen Pinsels in Form möglichst dünner, tiefschwarzer Querstriche auf der Wurzel auftragen. Vor dem Auftragen der Striche muß man die Wurzel abtrocknen, was am besten mit einem Stück dünner, weicher Leinwand geschieht, die man um die Wurzel herumlegt und mit leichtem Druck gegen die Spitze hingleiten läßt. Nachdem die Marken aufgetragen sind, läßt man die Keimpflanzen 1—2 Minuten in feuchter Luft liegen, um dem Tuschanstrich Zeit zum festen Adhärieren zu lassen, wenn die Wurzel in Wasser oder Erde weiterwachsen soll,

welche die Marke dann nicht abzuwaschen oder abzuscheuern vermögen. Die Lage und Entfernung der Marken richtet sich nach der Absicht des Versuches. Um der Keimpflanze eine feste Lage zu geben und das Markieren mit größerer Sicherheit vornehmen zu können, wird eine große, glatte Korkplatte von 2 cm Dicke benutzt, die am linken Rande mit einer runden Feile verschieden große Kerben erhält; von jeder derselben gehen auf der Oberfläche des Korkes einige mit dünner, runder Feile gemachte Rinnen nach verschiedenen Richtungen aus. Man probiert nun, in welche Kerbe der Samen sich mit einiger Reibung einschieben läßt, so daß er darin festhält, wobei die Wurzel gleichzeitig in die Rinne zu liegen kommt. Legt man nun neben die in der Rinne ruhende Wurzel eine Millimeterteilung, so kann man die Marken gleichsam als Verlängerung der Teilungsstriche des Maßstabes auftragen. Ebenso wird dann die beim Wachstum resultierende Verschiebung der Marken gemessen. Zur Messung der Krümmungsradien und Bogenlängen gekrümmter Wurzeln werden dünne Glimmerplatten benutzt, auf die mit der Zirkelspitze ein System konzentrischer Kreisbogen eingeritzt ist. Die Quadranten werden durch fortgesetzte Halbierung in 8, 16, 32 Teile geteilt;

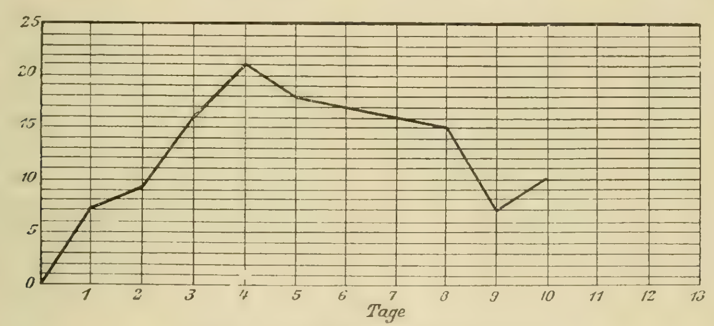


Fig. 141. Wachstumskurve nach Sachs.

man berechnet für jeden Radius die Länge eines solchen Bogenstückes und benutzt die so entworfene Tabelle zur Berechnung der Bogenlängen an den gekrümmten Wurzeln. Man legt an die Wand des Keimkastens die gradgeteilte Glimmerplatte und probiert, welcher der Kreise mit der Krümmung der Wurzel zusammenfällt. Durch bereitgehaltene gummierte Papierstreifen wird die geteilte Platte auf der Glimmerwand des Kastens befestigt und nun die Bestimmung vorgenommen.

Die Wachstumsmessungen sowohl oberirdischer (Fig. 140) als unterirdischer Organe ergeben, daß ein wachsender Pflanzenteil mit kleinen Zuwächsen beginnt, dann immer schneller wächst, ein Maximum der Wachstumsgeschwindigkeit erreicht und von dort ab immer langsamer wächst, bis das Wachstum endlich zum Stillstand kommt (Fig. 141), eine Erscheinung, welche als die große Periode bezeichnet wird. An einem wachsenden Internodium zeigt jeder Abschnitt eine große Periode, die älteren Abschnitte haben bereits aufgehört zu wachsen oder befinden sich in der letzten Phase ihrer großen Periode, während die jüngeren erst zu wachsen beginnen: aus diesen großen Perioden der einzelnen Querabschnitte setzt sich die große Periode des ganzen Internodiums zusammen. Der Einfluß von Licht und Temperatur macht sich darin geltend, daß ein im Lichte gewachsenes Internodium sein Maximum früher erreicht

als das etiolierte, daß die Ausgiebigkeit des Wachstums in allen Phasen seiner Periode geringer ist, und daß das Wachstum früher aufhört. Von Temperaturschwankungen zeigt sich das Wachstum insofern abhängig, als das grüne Internodium sein Maximum lange vor, das etiolierte lange nach dem während dieser Zeit eingetretenen Temperaturmaximum erreicht. Im allgemeinen folgt die Zuwachskurve der Temperaturkurve; zur Zeit der stärkeren Wachstumsfähigkeit, in der Mitte der großen Periode, verändern Temperaturschwankungen von einem bis zu einigen Graden in der Stunde das Wachstum mächtig, indem einem Steigen der Temperatur ein Steigen, dem Fallen der Temperatur ein Fallen des Zuwachses entspricht. Vom Abend bis zum Morgen steigen im allgemeinen die Wachstumskurven, auch wenn die Temperatur in der Nacht um einen oder mehrere Grade fällt; sie fällt dagegen nach Sonnenaufgang plötzlich und rasch, selbst wenn die Temperatur steigt; vom Morgen bis Abend herrscht also im allgemeinen eine Verminderung, während der Nacht eine Steigerung des Zuwachses. Wenn zu Mittag oder Nachmittag eine kleine Steigerung der Wachstumsgeschwindigkeit eintritt, die übrigens den Eintritt des abendlichen Minimums nicht hindert, so handelt es sich hier nur um die Wirkung der höheren Tagestemperatur, während die nächtliche Steigerung und das Sinken am Morgen durch innere Ursachen bewirkt wird. Das Licht bewirkt auf alle Fälle eine Retardation, die Dunkelheit eine Beschleunigung des Wachstums bei diesen Pflanzen. Es seien ferner einige von Sachs ermittelte Zahlen notiert: Phaseolus multiflorus, etiolierte Pflanze, große Periode der einzelnen Teile des epikotylen Internodiums; dasselbe wurde in zwölf Stücke zu 3—5 mm eingeteilt, die von unten nach oben mit *a* bis *m* bezeichnet sind, die Messung fand in 24 stündigen Intervallen statt, die Temperatur war 10—11 ⁰ C:

Bezeichnung der Stücke		Zuwachs bis									
		21. April	22. April	23. April	24. April	25. April	26. April	27. April	28. April	29. April	30. April
		mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
oben	m	1,2	1,5	2,5	5,5	7,0	9,0	14,0	10,0	7,0	2,0
	l	1,5	1,5	6,0	9,0	9,5	9,5	3,5	1,0	—	—
	k	2,7	3,0	6,5	6,0	2,0	—	—	—	—	—
	i	3,9	2,5	3,0	1,0	—	—	—	—	—	—
	h	3,3	1,0	0,5	—	—	—	—	—	—	—
	g	1,8	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—
	f	1,1	0,2	—	—	—	—	—	—	—	—
	e	0,6	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—
	d	0,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	c	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	b	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
unten	a	0,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Bei der Wurzel wird der erste Teilstrich (Marke 0) so gesetzt, daß ein Querschnitt an dieser Stelle den Vegetationspunkt der Wurzelspitze treffen würde; das ist nur annähernd möglich, da man den Vegetationspunkt nur undeutlich durchschimmern sieht, aber man vermeidet dadurch den Fehler, die vor dem Vegetationspunkt liegende, bis $^5/_{10}$ Millimeter umfassende Länge der Wurzelhaube, die gar nicht in Betracht kommt, in die Messung mit aufzunehmen, wodurch die

erste wachsende Zone zum Teil der Haube und nur zum Teil dem Wurzelkörper angehört, so daß sie mit den anderen nicht zu vergleichen ist. Man bringt nun, vom Vegetationspunkt angefangen, in gleichen Abständen einige Marken an und mißt deren Entfernung nach einiger Zeit: man findet dann eine letzte Querzone, die sich noch verlängert hat, während alle hinter dieser liegenden gleich geblieben sind oder sich verkürzt haben. Eine in Wasser senkrecht wachsende Wurzel von Vicia Faba war vom Vegetationspunkt aus in zehn Querzonen von je 1 mm Länge geteilt worden; die Zonen sind von der Spitze aufwärts mit I bis X bezeichnet; die Verlängerung ist nach 15 stündigem Wachstum bei 20—20,7 ⁰ C bestimmt.

Zone	Verlängerung	Zone	Verlängerung
X	0,0 mm	V	2,0 mm
IX	0,2 „	IV	2,5 „
VIII	0,3 „	III	2,0 „
VII	0,6 „	II	1,2 „
VI	1,4 „	I	0,8 „
		Gesamtzuwachs	11,0 mm

Die letzte gewachsene Querscheibe von 1 mm anfänglicher Länge ist also die neunte und die Länge der gesamten wachsenden Region umfaßt neun Querscheiben von je 1 mm Länge. Die Länge der wachsenden Region zeigt bei verschiedenen Individuen derselben Art selbst bei gleichen äußeren Bedingungen wesentliche Unterschiede, wie aus dem folgenden Beispiel von fünf Pisum sativum-Pflanzen A, B, C, D, E ersichtlich, deren Zuwachs in demselben Zylinder bei einer Temperatur von 18,7—20,5 ⁰ C nach 17 Stunden bei anfänglicher Wurzellänge von 15 mm verzeichnet ist[1]):

Querscheiben	Zuwachs in Millimetern				
	A	B	C	D	E
X	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
IX	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
VIII	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
VII	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
VI	0,8	0,5	0,5	0,0	0,0
V	1,3	0,5	1,5	0,2	0,0
IV	2,5	1,5	2,0	0,3	0,8
III	7,0	4,0	6,2	1,0	3,5
II	4,0	6,5	5,5	6,5	5,7
I	0,6	1,0	0,5	3,0	1,0

Die Länge der wachsenden Region ist danach bei A = 6,5 mm, bei B = 5,5 mm, bei C = 5,5 mm, bei D = 4,5 mm, bei E = 3,5 mm. In feuchter Luft ist die Länge der wachsenden Region meist kleiner als in Wasser und in lockerer Erde, bei Phaseolus multiflorus in Luft zirka 5,5 mm, in Wasser zirka 8,5 mm. Wurde an der Hauptwurzel von Vicia Faba eine Zone dicht hinter dem Vegetationspunkt durch zwei feine Tuschstriche im Abstande von 1 mm markiert, so fand Sachs,

[1]) J. Sachs, Arbeiten des Botanischen Institutes in Würzburg. 3. Heft, 1873, p. 416.

daß diese an aufeinanderfolgenden Tagen um nachstehende Werte an Länge zugenommen hatte: 1,3, 5,7, 12,5, 10,5, 9,0 0,0. Die Größe des Zuwachses nimmt also anfangs langsam, dann schnell zu und hält sich eine gewisse Zeit auf der maximalen Höhe, um dann wieder zu fallen und endlich zu Null abzusinken. Es ist also auch bei der Wurzel ebenso wie bei den oberirdischen Pflanzenteilen die große Wachstumsperiode erkennbar.

Jost (Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 2. Auflage, Jena 1908, S. 336) gibt folgende Tabelle über den Längenzuwachs der einzelnen Zonen bei der Wurzel von Vicia Faba, aus der man deutlich ersieht, wie eine bestimmte Zone (hier die dritte) schließlich die größte Länge erreicht und die Zone größter Länge sich dabei immer mehr gegen die Spitze verschiebt. Die Zonen von je 1 mm haben nachstehende Längenwerte erreicht:

Stunden:	0	3	6	9	12	15	18	21
X	0	1,2 ausgewachsen						
IX	1,0	1,5 ausgewachsen						
VIII	1,0	1,8 ausgewachsen						
VII	1,0	1,8	2,0 ausgewachsen					
VI	1,0	1,6	2,8 ausgewachsen					
V	1,0	1,2	2,8	4,2	4,6 ausgewachsen			
IV	1,0	1,1	1,4	3,2	5,0	6,4 ausgewachsen		
III	1,0	1,0	1,2	1,4	2,2	4,4	6,8	8,6
II	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	1,2	1,7	3,0
I	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	1,6

Das Maximum des Zuwachses liegt hier nach drei Stunden in der 7. und 8. Zone, nach 8 Stunden in 6 und 5, es rückt dann immer mehr vor, bis es in der 18. und 21. Stunde in Zone 3 liegt, von wo es schließlich nach Zone 1 rücken muß.

Bei Vicia Faba-Wurzeln fand Sachs folgenden Zuwachs:

Zone	Zuwachs in Millimetern nach Stunden				
	6	17	24	2 × 24	3 × 24
I	0,0	1,0	1,8	5,0	23,0
II	0,3	7,7	4,5	15,0	17,0
III	0,5	5,5	5,6	6,6	6,6
IV	0,8	3,2	3,0	3,0	3,0
V	0,8	1,2	1,5	1,5	1,5
VI	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
VII	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4
VIII	0,2	0,4	0,0	0,0	0,0
IX	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0
X	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Um von der Dauer des Wachsens der einzelnen Zonen unabhängig zu sein und die Geschwindigkeit selbst vergleichen zu können, ist es nötig, möglichst kurze Zeit nach der Markierung bis zur ersten Messung verstreichen zu lassen. Wortmann, welcher die Sachsschen Versuche wiederholte, bestätigte das Ergebnis, daß das Wachstumsmaximum mit jedem Tage höher hinaufrückt, um mit der Streckung des Keimlings ganz zu verschwinden. Er markierte in Abständen von 0,5 cm und erhielt (bei 22 ° C im Glashause) folgende Werte:

Tag	Abstände der einzelnen Marken							
23. 7.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
26. 7.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,0	1,1	0,8	0,5
27. 7.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,2	1,8	1,5	0,8
28. 7.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,2	1,9	2,4	1,5
29, 7.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,2	1,9	2,6	2,5
30. 7.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,2	1,9	2,6	3,5
31. 7.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,2	1,9	2,6	3,5
1. 8.	0,5	0,6	0,6	0,8	1,2	1,9	2,6	3,5

In allen diesen Versuchen wurde e i n Wachstumsmaximum gefunden, während W i e s n e r in seinen Versuchen, solange der Keimling nutierte, deren zwei feststellte; das zweite Maximum verschwand mit der Lösung der Nutation. Nach H o k e[1]) sind z w e i Maxima aber nur in Laboratoriumsluft zu bemerken, in reiner Luft dagegen nur e i n e s; auch die Hypokotyle von Lupinus albus, Helianthus annuus zeigen dasselbe Verhalten wie das Epikotyl von Phaseolus multiflorus, dagegen findet sich bei Phaseolus vulgaris infolge der starken Nutation ein zweites Maximum auch in reiner Luft.

Daß zum Wachstum freier Sauerstoff notwendig ist, erkennt man an der Tatsache, daß dieses im sauerstoffreien Raume unterbleibt. Auch wenn die Kotyledonen ganz in Wasser versenkt sind, so daß der Luftzutritt gehemmt ist, findet man das Wachstum stark zurückgehalten. Den großen Einfluß verschiedener Temperaturen kann man wahrnehmen, wenn man Erbsensamen mit eben austretenden Würzelchen in vier Töpfe versetzt, die bei konstanten Temperaturen, bei 39—40 ° C, bei 35 ° C, bei 23 ° C und bei 10—12 ° C gehalten werden. Das durchschnittliche Wachstum der Wurzeln bei 10 °, 23 °, 35 ° C zeigt aufsteigende Folge, während das Wachstum bei 39 ° C geringer ist als das bei 35 ° C. D a r w i n gibt folgende Mittelzahlen aus Messungen nach 49 Stunden:

bei 10 ° C 5 mm
„ 21 ° „ 10 „
„ 31 ° „ 25 „
„ 39,5 ° „ 15 „

Auch durch Narkotika wird das Wachstum zurückgehalten. Die Notwendigkeit des Wassers für das Wachstum kann durch folgenden Versuch demonstriert werden: Erbsen, deren Wurzel die Länge von etwa 3 cm erreicht hat, werden in der geschilderten Weise in folgende Flüssigkeiten eingehängt: die einen in gewöhnliches Leitungswasser, die zweiten in 1 prozentige Kalinitratlösung, die dritten in 3 prozentige und die vierten in 5 prozentige Salpeterlösung. Während die Wurzeln in den beiden ersten Gläsern normal wachsen, ersehen wir aus den angebrachten Marken im dritten Glase eine sehr mäßige Verlängerung, im vierten sogar eine Verkürzung der Wurzeln. Der Einfluß farbigen Lichtes zeigt sich, wenn wir Keimlinge unter verschiedenfarbigen Glocken ziehen: wir beobachten, daß im roten Licht die Erscheinungen des Etiolements stattfinden, daß also trotz der gerade hier am stärksten vor sich gehenden Assimilation die Wachstumserscheinungen dieselben sind wie im Dunkeln, hier sind die s t ä r k e r brechbaren Anteile des Spek-

[1]) F. H o k e, Wachstumsmaxima von Keimlingsstengeln in Laboratoriumsluft. Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss., Wien **121** (1912).

trums diejenigen, denen die größte Bedeutung zukommt, während für die chemische Arbeit der Kohlensäureassimilation die schwächer brechbaren Anteile die Hauptrolle spielen.

Wenn wir an den Epikotylen von im Dunkeln erwachsenen Phaseoluspflanzen Marken anbringen und deren Entfernung nach je 24 Stunden messen, finden wir, wie schon erwähnt, daß diese nur im oberen, nicht aber im unteren Teile des Stengelgliedes größer geworden sind, hier ist also die Vegetationszone terminal; die Wachstumsregion ist recht ausgedehnt und kann über 30 mm betragen, während ja die Wachstumszone der Wurzel nur wenige Millimeter beträgt. Wenn wir aus einem Halm von Secale oder einer anderen Graminee ein Internodium herausschneiden und in eine obere und untere Hälfte teilen, beide mit ihrer Basis in Wasser tauchen und unter günstige Wachstumsbedingungen bringen, so finden wir nur die untere, nicht die obere Hälfte durch Wachstum verlängert, da hier das an der Basis der einzelnen Internodien von der Blattscheide umschlossene Gewebe der Achse längere Zeit embryonalen Charakter behält, während die höheren Teile bereits ausgewachsen sind: es ist also hier eine basale, interkalare Vegetationszone vorhanden. Bringt man bei Weizenkeimlingen, die bereits das erste Laubblatt entwickelt haben, das auf das Scheidenblatt folgt, nahe der Spitze des Laubblattes zwei Marken in einer Entfernung von 3 mm an, ebenso ferner beim Scheidenblatt nahe der Spitze und zirka 15 mm höher auch beim Laubblatt, so findet man nach 24 Stunden diese Marken infolge des basalen Wachstums des Blattes stark auseinandergezogen, während an der Spitze des Laubblattes die Marken in gleicher Entfernung geblieben sind und sich nicht verschoben haben.

Ein Auxanometer, welches besonders geeignet ist, Dickenwachstum zu messen, aber auch zur Messung des Längenwachstums brauchbar ist, hat D. Frost [1]) konstruiert. Es leistet wegen seiner besonderen Leichtigkeit und Genauigkeit besonders gute Dienste bei der Wachstumsmessung kleiner, zarter Pflanzen und kann auch, da es aus Aluminium gebaut ist, unter den normalen Feuchtigkeitsverhältnissen der Pflanze ohne Schaden eingestellt werden; die Pflanze mit dem Auxanometer kann, da die Übertragung elektrisch erfolgt, beliebig weit vom Registrierapparat aufgestellt sein. Das Auxanometer besteht aus einem Zahnrad auf einer Stahlachse, welche auch eine Serie kleiner, gekerbter Räder von 1, 3½ und 6 mm Durchmesser sowie ein etwas größeres Rad trägt, auf welchem ein Draht mit Gegengewicht aufgezogen ist. Der Durchmesser des größeren Rades beträgt zirka 5 cm und sein Umfang enthält 144 Kerben. Ein Sperrhaken, der in die Kerben eingepaßt ist, befindet sich auf einer der anderen ähnlichen Achse und trägt einen langen horizontalen Arm, welcher ein Platinende besitzt. Wenn sich das große Rad umdreht, greift der Haken in die Kerben ein, und die Platinspitze berührt beim Niederfallen einen Quecksilbertropfen, der in einem kleinen Napf am Arm des Balkens liegt. Dieser Arm ist vom übrigen Apparat isoliert und durch einen dünnen Draht mit dem einen Pol einer elektrischen Batterie verbunden, während der andere Teil des Instrumentes mit dem anderen Pol derselben in Verbindung steht. Eine Schraube unterhalb des Quecksilbernapfes ermöglicht die Regulierung der Höhe

[1]) W. D. Frost, On a new electrical auxanometer and continous recorder. Minnesota botan. studies 9, 181 (1894).

des Quecksilbers und damit des Zeitintervalls, innerhalb dessen der elektrische Strom geschlossen oder geöffnet wird. Der Rahmen des Apparates ist aus Aluminium hergestellt und wiegt im ganzen 15 g. Er kann an dem Arm eines Stativs befestigt werden und so zur Messung des Höhenwachstums dienen, während er für Messung des Dickenwachstums vom Stativ aus an das zu messende Objekt angelegt wird, eventuell dort mit einer Klammer befestigt. Wenn der Apparat an Ort und Stelle ist, wird ein Seidenfaden von der Spitze des Apparates im entgegengesetzten Sinne des Uhrzeigers um den ganzen Umfang des Pflanzenteils (z. B. des Stengels) herumgelegt, von wo er durch ein Loch in der Achse des Auxanometers zieht, um dort sorgfältig befestigt zu werden, wobei das Gegengewicht am Rade hinreichen muß, um ihn gestreckt zu erhalten. Wenn die Pflanze in die Dicke wächst, wird der Faden von der Rolle abgewunden, auf welcher er aufgerollt ist; und indem diese sich dreht und die Zähne des großen Rades die Sperrstange passieren, wird der elektrische Strom abwechselnd geöffnet und geschlossen. Zur Messung des Längenwachstums ist das Instrument oberhalb der Pflanze befestigt, und der Faden geht vom wachsenden Teil zu den kleinen Rädern. Steht das kleinste derselben in Verwendung, so werden bei einem Zuwachs um 1 mm 46 Aufzeichnungen gemacht, d. h. $^1/_{46}$ mm Zuwachs bewirkt eine Schließung des Stromes, während das größte Rad das Wachstum von je $^1/_7$ mm registriert.

Die automatische Registriervorrichtung besteht im wesentlichen aus zwei Walzen, von denen eine mit einem Uhrwerk versehen ist, durch dessen Bewegung ein Papierstreifen auf die andere Walze aufgewunden wird, und ein Elektromagnet, an dessen Anker ein Schreibstift angebracht ist, preßt denselben gegen das Papier. Während der Strom geöffnet ist, wird eine kontinuierliche Linie nahe dem Rand des Papierstreifens gezogen. Wenn der Strom geschlossen ist, wird der Schreibstift nach der anderen Seite des Papiers gezogen und die Länge des hier verzeichneten Strichs gibt die Zeitspanne an, während welcher der Strom geschlossen ist. Das Zahnrad des Uhrwerkes, welches acht Tage ohne Aufziehen funktioniert, dreht die Rolle in zwölf Stunden einmal um sich selbst. An der Oberfläche der Walze ist ein Zifferblatt mit in umgekehrter Reihenfolge stehenden Ziffern angebracht, am Stativ befindet sich ein Zeiger, so daß die vom Uhrwerk durchlaufene Zeit sofort abgelesen werden kann. Die andere Walze ist mit Ausnahme des Zifferblattes der ersten völlig gleich. Das Registrierpapier ist mit einem zweckmäßigen Liniensystem versehen, welches den Streifen in Stundenräume einteilt, die fortlaufend bezeichnet sind; die Zeit des Registrierens muß durch weitere Unterteilung von Minute zu Minute direkt vom Papier abgelesen werden können.

Der Zeitmarkierer besteht aus einem Stahlstift, der groß genug ist, um für zwei Wochen hinreichend Registriertinte zu halten; er ist mit einer Spiralfeder an dem Anker eines Elektromagneten befestigt, der an einem Scharnier nahe der Basis angebracht ist. Wenn der Anker infolge der Anziehung durch den Magneten sich bewegt, wird die Feder ein kleines horizontales Stück weit gezogen; die Feder drückt sich gegen das Papier auf der Rolle und kann durch eine Vorrichtung mit jedem beliebigen Druck am Papiere gehalten oder von diesem entfernt werden, wenn das Papier entfernt oder gewechselt werden soll.

Wenn der Strom geöffnet ist, wird der Anker durch die Uhrfeder

zurückgehalten, die Länge der Stahlfeder ist so bemessen, daß die Feder dann nahe der rechten Seite des Streifens eine gerade Linie zieht. Wenn der Strom geschlossen ist, wird der Anker angezogen und die Feder auf die andere Seite des Papierstreifens geschoben und verzeichnet dort im rechten Winkel eine kurze Längslinie auf dem Papier. Wenn der Strom einen Moment geöffnet ist, wird die Zeit der Registratur bloß durch eine einzige Kreuzmarke angezeigt, dagegen durch eine Linie linksseits des Papiers, wenn der Strom eine Zeitlang geschlossen bleibt. In diesem Falle wird die Länge der Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Schließungen des Stromes durch den Abstand zwischen zwei aufeinanderfolgenden Vorwärtsbewegungen der Feder angezeigt oder, was dasselbe ist, durch die Länge der gezogenen Linie, während der Strom geschlossen ist, zuzüglich der Länge der Linie, welche verzeichnet wird, während der Strom geöffnet ist, wenn also eine Kerbe den Sperrhaken passiert. Das Auxanometer ist mit dem Registrierapparat verbunden und beide können ebensogut nebeneinander wie weit entfernt voneinander aufgestellt werden. Dieser kontinuierliche Registrierapparat kann natürlich nicht nur in Verbindung mit einem Auxanometer, sondern überall dort angeschaltet werden, wo das Resultat einer längeren Versuchsreihe fortlaufend automatisch verzeichnet werden soll.

XXII. Messung der Gas- und Wasserbewegung.

Zur Bestimmung der Transpiration[1]), d. h. zur Feststellung der Abgabe von Wasserdampf durch unverletzte Pflanzenteile sind mehrere qualitative und quantitative Methoden in Gebrauch. Die quantitative Messung wird am besten durch die direkte Wägung und Bestimmung des Gewichtsverlustes seitens der Pflanze innerhalb der Versuchsdauer ausgeführt.

Qualitative Methoden.

Der Beobachtung am besten zugänglich sind die Farbenänderungen hygroskopischer Salze bei Aufnahme von Wasser; wegen ihrer Einfachheit hat die größte Beliebtheit die Stahlsche[2]) Kobaltpapiermethode gefunden. Streifen gewöhnlichen Filtrierpapiers werden durch Eintauchen in eine 3—5 prozentige Lösung von $CoCl_2$ getränkt und nach Ausbreiten an der Luft im Exsikkator bis zur völligen Wasserabgabe getrocknet. Legt man einen solchen, nunmehr tiefblauen Streifen auf die zu prüfende Blattfläche, so färbt sich der Streifen je nach der Menge des abgegebenen Wasserdampfes früher oder später rot, so auf der spaltöffnungsreichen Unterseite oft schon nach wenigen Stunden, auf der Oberseite langsamer. Durch sofortiges Bedecken des Streifens mit einer Glas- oder Glimmerplatte, die mit Klammern am Blatte befestigt wird, verhindert man möglichst den Zutritt der Luftfeuchtigkeit zum eingeklemmten Kobaltstreifen. Da das Kobaltpapier immerhin nicht sehr empfindlich ist,

[1]) Die gründlichste, umfassende Studie über Transpiration der Pflanzen besitzen wir in der ausgezeichneten Monographie von A. Burgerstein, „Die Transpiration der Pflanzen", Jena 1904. Hier ist auch das Methodische entsprechend gewürdigt und einige der vorliegenden Abbildungen sind dem genannten Werke (stets im Vergleiche mit dem Original) entnommen.

[2]) Botan. Ztg. 52, 117 (1894).

wäre vielleicht die Verwendung von Jodblei-Lösung zur Imprägnierung von Papierstreifen vorzuschlagen; man erhält dieses Salz durch Fällen einer löslichen Bleiverbindung mit Jodkali. Mit einem Überschuß von Jodkali vereinigt es sich zu einem in farblosen Nadeln kristallisierenden Doppelsalz, welches aus seiner Lösung durch Äther fällbar ist. Das Doppelsalz wird in seinem vierfachen Gewichte Azeton aufgelöst und mit dieser Lösung wird Filtrierpapier getränkt, das man im Exsikkator über Chlorkalzium trocknen läßt; Spuren von Feuchtigkeit färben solches Papier gelb, da das Doppelsalz durch Wasser zerlegt wird. Durch Befeuchten mit Azeton läßt sich dieses Reagenzpapier regenerieren, was der langdauernden Trocknungsmethode des Stahlschen Papieres gegenüber ebenfalls einen Vorteil bietet. Versuche, mit diesem Papier die Transpiration von Pflanzen schnell und bequem nachzuweisen, haben zu befriedigenden Resultaten geführt.

Bei Stahls Kobaltprobe wie auch bei manchen anderen pflanzenphysiologischen Experimenten, ist es wünschenswert, das Reagenzpapier auf zwei einander vollkommen entsprechenden Flächen der beiden Blattseiten aufzulegen; man verwendet dazu mit Spangen verschlossene Uhrgläser und dergleichen; besondere Genauigkeit, Raschheit und Bequemlichkeit des Arbeitens gewährt folgendes kleine, von Ganong[1]) angegebene Instrument: Zwei gleichartige Messingringe, jeder von 3 cm Durchmesser und 5 mm Dicke, sind an den Enden paralleler, biegsam-elastischer Stäbe so befestigt, daß diese die Ringe fest und genau Rand an Rand halten, wobei aber ihre Trennung durch eine Klemmschraube bis zu jedem gewünschten Maße möglich ist. Für jeden Ring sind zwei Zusatzringe vorgesehen. Einer von ihnen ist rechtwinklig geteilt und hält ein entfernbares Deckglas, so daß es, wenn es über den exponierten Rand des Messingringes geschoben wird, den letzteren in eine glasgedeckte Kammer verwandelt. Wenn die mit $CoCl_2$ getränkten Filtrierpapierstreifen (zweckmäßig ein wenig breiter geschnitten als die Messingringe, haften sie in der Mitte zwischen ihnen und lassen sich gut ausspannen) in die Ringe gelegt und diese dann aufs Blatt gelegt werden, kann man die Farbenänderungen durch Transpiration mit größter Genauigkeit beobachten. Die Enge der Kammern gestattet, daß die Papiere, vom Blatt entfernt, ihren jeweiligen Zustand lange Zeit beibehalten, so daß man in aller Ruhe arbeiten kann. Der zweite Zusatzring ist geteilt und ist dazu bestimmt, Zinnfolie oder irgendeinen anderen Stoff eng an den Kammerring zu halten. Wenn also vorspringende Blattadern eine hinlänglich enge Berührung von Kammer und Blattfläche verhindern, die für manche Zwecke nötig ist, kann durch den geteilten Ring ein dünnes

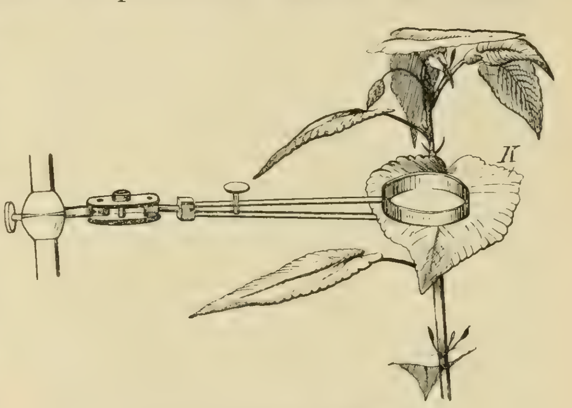


Fig. 142. Ganongs Glaskammer.

[1]) Ganong, Botan. Gaz. **39**, 145 (1905).

Kautschukband gegen das Blatt gepreßt werden, so daß es die Räume zwischen den Adern ausfüllt.

F. Darwins Horn-Hygroskopmethode[1]): *c* (Fig. 143) ist ein Korkstück (5 × 4 × 4 mm), auf dessen Unterseite ein Streifen von einem Rasiermessergriff aus gepreßtem Horn (zirka 8 mm lang und 3 mm dick) angekittet ist, *t*. Dieser stellt einen hygroskopischen Streifen vor, der an seinem freien Ende eine Borste *b* trägt, die auf einer Einteilung spielt. Das aus dem Rasiermesser quer durch den Strich geschnittene Hornmaterial wird vorher zwischen Glasplatten über einer Gasflamme erhitzt. Ein Quadrant *G* aus Pappendeckel ist an der Unterseite der Korkscheibe befestigt und trägt längs der Krümmung die Skala. Wenn das Hygroskop sich auf einer trockenen Fläche befindet, so bleibt der Zeiger in Ruhe auf 0 stehen, auf einer transpirierenden Fläche dagegen, z. B. auf der spaltöffnungsführenden Seite eines Blattes, krümmt sich der Zeiger sofort von der Feuchtigkeitsquelle weg und streift dabei über die Skala. Der Vorteil des einfachen Instrumentes liegt darin, daß es in wenigen Sekunden ein Bild über die Transpiration gibt; es wird auch bei der später zu besprechenden Beurteilung des Offenseins oder Geschlossenseins der Spaltöffnungen angewendet. Nach dem Grade der Abweichung ist auch ein Schluß auf die Größe der Transpiration möglich. Darwin hat eine Reihe von Transpirationsbestimmungen bei Ficus elastica gemacht, in welchen der Gewichtsverlust des transpirierenden Blattes in Milligramm mit den Hygroskopablesungen verglichen wurden:

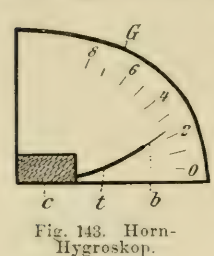


Fig. 143. Horn-Hygroskop.

27. August 1897			Januar 1898		
Zeit	Verlust per 1h und 100 qcm	Mittelwert des Hygroskops	Zeit	Verlust per 100 cbcm in der Stunde	Hygroskop
11^{15}—11^{55} a. m.	310	20	$10^{[illegible]0}$ a. m.	216	15
	265	17	10^{55} a. m.		
12^{6} - 12^{56} p. m.	169	15	11^{40} a. m.	116	10
	96	12	12^{13} p. m.	61	5
$2^{[illegible]}$—$2^{[illegible]3}$ p. m.	72	8	12^{43} p. m.	47	4
	60	2	2^{20} p. m.	23	2
3^{3}—4^{50} p. m.	24	--	3^{22} p. m.	17	—

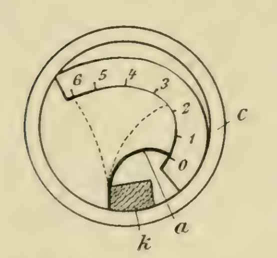
Das Hygroskop muß sehr sorgfältig gearbeitet sein, das Horn sorgfältig präpariert. Ein möglichst dünnes Rasiermesser von gepreßtem und erhitztem Horn, das auf einer Drehbank quer durchschnitten wurde, ist notwendig. Die besten Schnittstücke werden ausgesucht, mit destilliertem Wasser befeuchtet und zwischen zwei Glasplatten ausgebreitet, die aneinandergepreßt werden. Das Horn wird so flach ausgespannt, während es sorgfältig über einer Gasflamme erhitzt wird. Die Scientific Instrument Cie., Cambridge, hat in der Regel ein Lager von brauchbarem Horn; sollte aber solches nicht erhältlich sein, so kann auch das Material (Zelluloid), aus dem hygroskopisches Spielzeug, wie

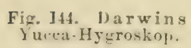
[1]) Philos. Transact. B., **190**, 533 (1898).

Fische usw., gemacht wird, verwendet werden, das aber freilich nicht annähernd so haltbar ist wie Horn. Bei Ausführung der Messung ist es ratsam, das Instrument nur wenige Sekunden auf dem Blatte zu belassen, weil sonst das Horn sich dauernd krümmt. Beim Ablesen ist es am besten, die Stellung des Zeigers nach einer bestimmten Frist, z. B. 10 Sekunden, abzulesen oder auch abzuwarten, bis der Zeiger zur relativ längsten Ruhe gelangt ist. Für die Beobachtung ist es zweckmäßig, das Blatt mit den Spaltöffnungen nach aufwärts auf einer horizontalen Unterlage durch kleine Metallgewichte zu befestigen. Sobald die Ablesung gemacht worden ist, muß das Hygroskop beiseite gestellt werden, bevor die nächste Beobachtung stattfinden kann. Der Zeiger krümmt sich oft mit der Zeit leicht, so daß der Nullpunkt oder die Differenzstrecke sich verschiebt. Es ist daher notwendig, jedesmal den Nullpunkt zu notieren und ihn von der Ablesung zu subtrahieren; so daß z. B. wenn die Ruhestellung des Zeigers auf 5 weist und die Ablesung bei der Bestimmung auf 30, der Versuchswert 25 beträgt. Die Hornunterlage des Instrumentes wirft sich bisweilen, die Blattfläche pflegt nicht eben zu sein, so daß der Zeiger oft eine plötzliche Bewegung ausführt, wenn das Instrument aufgesetzt wird. So ein Ruck ist aber leicht von der normalen Zeigerbewegung zu unterscheiden, denn wenn das Instrument abgehoben wird, kehrt der Zeiger nach einer regelrechten Aufrichtung allmählich zur Ruhelage zurück, dagegen plötzlich nach einem unregelmäßigen Ruck. Bisweilen ist es notwendig, das Hygroskop ganz leicht über die Oberfläche emporzuheben und einen dünnen Papierstreifen unter den Kork zu legen oder ein stärkeres Objekt unter das Eck des Papierquadranten; auf diese Weise steht die Fehlerquelle des Ruckes unter Kontrolle, wenn auch auf Kosten der äußersten Grenze der Empfindlichkeit. Die bedeutendste Fehlerquelle der Methode besteht aber darin, daß der Zeiger immerwährend zu Abbiegungen geneigt ist, wogegen nur ein angemessener Vorrat neuer Instrumente hilft. Wenn das Hygroskop auf eine warme, aber trockene Fläche gestellt wird, erhebt sich der Zeiger ebenso als wäre die Oberfläche feucht; die Temperaturänderungen werden auch von anderen hygroskopischen Substanzen registriert. Jedoch ist diese Fehlerquelle praktisch nur für große Temperaturintervalle vorhanden und auch hier nicht unüberwindlich. Darwin führt folgenden Versuch aus: Um zu zeigen, daß die Spaltöffnungen sich schließen, wenn das Blatt abstirbt, wurde das Blatt zur Hälfte durch Darüberhalten über eine Gasflamme zum Einschrumpfen gebracht; die sofort vorgenommene Ablesung am Hornhygroskop zeigt, daß die Spaltöffnungen in der abgetöteten Hälfte scheinbar offen stehen, der Irrtum rührt daher, daß die Fläche noch warm ist; aber nach zwei Minuten, wenn das Blatt die Zimmertemperatur angenommen hat, zeigt sich diese Wärmewirkung nicht mehr: die Ablesung auf der toten Hälfte ist nunmehr Null, auf der lebenden so wie es der Öffnung der Stomata entspricht. Natürlich wird das Instrument auch durch die Luftfeuchtigkeit beeinflußt, aber diese Fehlerquelle fällt kaum ins Gewicht, außer bei annähernder Feuchtigkeitssättigung der Luft, und kommt um so weniger in Betracht, als ja meist nicht absolute, sondern Vergleichsbestimmungen gemacht werden. Ferner sollen die Bestimmungen bei möglichst ruhiger Luft, jedenfalls nicht bei starker Windbewegung gemacht werden, weil dadurch (durch das Herbeiführen immer neuer Luft) die Transpirationsgröße schnell wechselt. Das Hygro-

skop zeigt eigentlich bloß den Ort der Transpiration an, es ist aber deshalb so wertvoll, weil es, indem es die Länge des Weges der auf dem Horn aufgeklebten Haarspitze zahlenmäßig zu bestimmen erlaubt, auch approximativ verschiedene Öffnungsweiten der Stomata ergibt (Molisch); es bildet ferner einen Übergang zu den quantitativen Methoden, indem es, wenigstens bei vergleichenden Messungen, über die relative Weite der Spaltöffnungen etwas auszusagen erlaubt.

F. Darwins Yucca-Hygroskop (Fig. 144): Wenn Stahls feuchtigkeitsempfindliches Papier unter eine Glasplatte gelegt wird, die auf der Oberfläche des Blattes befestigt ist, kann die Kobaltmethode sehr kleine Transpirationsgrößen anzeigen. Das Hornhygroskop dagegen kann als Indikator für die angesammelten Produkte der Transpiration nicht verwendet werden. Wollte man das Instrument unter jener auf der Blattoberfläche befestigten Glasdecke belassen, so würden die Ablesungswerte ab- statt zunehmen. Eine Zunahme von Wasserdampf zeigt dagegen das Yucca-Hygroskop an. Das Material besteht aus der getrockneten Epidermis von *Yucca aloifolia*; in trockener Luft ist es auf der einen Seite so konkav, daß es aussieht wie eine Papierrolle; in feuchter Luft rollt es sich sogleich auf, wird flach und rollt sich dann nach der entgegengesetzten Seite ein. *c* ist eine kleine Glaskammer (10 × 5 mm), wie sie für Pilzkulturen verwendet wird, auf einer Seite mit einem Deckstreifen geschlossen (in Fig. 145 ist die Decke *s* links, die offene Seite, die auf das Blatt zu liegen kommt, rechts). An der vertikalen Wand der Röhre ist ein Stückchen Kork befestigt, welches einen Streifen der Yuccaepidermis trägt. Fig. 144 zeigt das Yuccahygroskop in der Aufsicht mit eingerollter Membran, also in der Trockenstellung. Eine an der Glasbedeckung des Zylinders angeklebte Papierskala gestattet eine Messung der Formveränderung der Yuccamembran *a* (resp. *y* in Fig. 145), welche am Korkstück *k* befestigt ist. Auf ein selbst nur sehr wenig transpirierendes Blatt gelegt, rollt sich die Membran sofort auf, indem sie innerhalb weniger Sekunden von *0* bis *2* oder selbst bis *6* wandert. Das Yuccahygroskop kann nur in trockenen Räumen verwendet werden, in feuchter Luft ist der Zeiger so stark aufgerollt, daß man das Instrument nicht benutzen kann. Da die Stellung des Zeigers nicht davon abhängt, ob die Luft auf der einen Seite der Membran mehr feuchtigkeitsgesättigt ist als auf der anderen, sondern einfach von dem Feuchtigkeitsgehalte der Luft, so ist es natürlich, daß es dazu dienen kann, um geringe Anhäufung von Dampf anzuzeigen. Die Empfindlichkeit des Yuccahygroskops ist nicht immer von Vorteil; es ist leicht damit die Transpiration von spaltöffnungslosen Oberflächen zu messen und deshalb ist man bei kleinen Transpirationswerten nie sicher, wieviel von stomatärer und wieviel von kutikularer Transpiration herrührt. Bei dem folgenden, von Darwin beschriebenen Beispiel war die kutikulare Transpiration praktisch gleich null und eine sehr geringe stomatäre Transpiration war nachweisbar. Zwei Efeublätter wurden 19 Stunden lang nach dem Abpflücken welken gelassen und Yuccahygroskope dann mit Wachs auf der Ober- und Unterseite be-




Fig. 144. Darwins Yucca-Hygroskop.

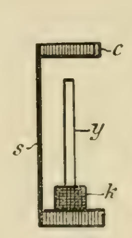


Fig. 145. Dasselbe im Querschnitt.

festigt; eine Bewegung des Zeigers erfolgte nur an dem auf der Unterseite befindlichen Instrument, also als Ausdruck der Spaltöffnungstätigkeit. Dasselbe wäre auch durch die Kobaltprobe oder durch Wägung gezeigt worden, nicht aber durch das Hornhygroskop. Die Kobaltprobe ist von Stahl nach zwei Richtungen ausgewertet worden, nämlich um den Effekt bei Blättern, die vollkommen zwischen Glasplatten eingeschlossen waren, in ein bis zwei Minuten zu erkennen, oder in der Weise, daß das Reagenzpapier von einem kleinen auf dem Blatte befestigten Gefäß bedeckt war. Diese beiden Anwendungsarten analogisieren im großen und ganzen das Horn- und das Yuccahygroskop, wobei jedoch zu bemerken ist, daß das erstere empfindlicher ist als die Kobaltmethode, wogegen zugunsten dieser ins Gewicht fällt, daß Beobachtungen, welche mit einer bestimmten $CoCl_2$-Lösung und einer bestimmten Filtrierpapiersorte angestellt wurden, vergleichbarer sind als die Ablesungen mit zwei Hygroskopen, daß ferner die Herstellung, Haltbarkeit und Manipulation des Kobaltpapieres leichter ist. Ein Blatt der Gartenchrysantheme gab auf Kobaltpapier zum Teil einen roten Abdruck, während der andere Teil des Papieres blau blieb; die Ablesung des Hornhygroskopes ergab für die blauen Partien die Zahl 7, für die roten 13, d. h. also, das Hornhygroskop zeigt noch Transpiration in dem Teile des Blattes an, welcher Kobaltpapier unverändert blau ließ. Die Erhärtung der Ergebnisse aller Methoden erfolgt schließlich durch Wägung. So, wenn z. B. ein Blatt auf seiner spaltöffnungführenden Oberfläche mit Wachs bekleidet ist: Wägung ergibt die Verdunstung seitens der Kutikula und so ist eine Korrektion der Wägungen eines Blattes möglich, das auf der stomatalosen Fläche mit Wachs bedeckt ist. Natürlich gewinnt man so nicht absolut genaue Werte, aber immerhin die besterreichbaren. Darwin klassifiziert die Empfindlichkeit der verschiedenen Methoden folgendermaßen: 1. Vergleichende Wägung, 2. Yuccahygroskop und Kobaltmethode (bei langdauernder Exposition), 3. Hornhygroskop, 4. Kobaltmethode (kurze Exposition), 5. mikroskopische Untersuchung des unverletzten Blattes. Diese letztere Methode ist von Lloyd[1]) modifiziert worden, indem die Oberhaut vom lebenden Blatte abgezogen, ganz kurz in absoluten Alkohol eingetaucht und dann unter dem Mikroskop betrachtet wird. Diese Arbeitsweise, welche hauptsächlich bisher bei Fouquiera splendens und Verbena ciliata erprobt wurde, soll an der Epidermis genau die Spaltenweite fixieren, welche am lebenden Blatte im Momente des Abtötens vorhanden war.

F. Darwin und D. F. M. Pertz[2]) beschreiben einen weiteren leistungsfähigen einfachen Apparat zur Beurteilung der Spaltöffnungsweite, das Porometer (Fig. 146 und 147): Eine kleine, glockenförmige Glaskammer C mit breitem Rand wird auf der spaltöffnungführenden Fläche des Blattes L befestigt. Ein Kautschukschlauch verbindet C mit einem T-Rohr (T) aus Glas, dessen langer Schenkel graduiert ist und in ein Gefäß V mit Wasser taucht. Der kurze Schenkel links trägt einen Kautschukschlauch, der durch die Klammer M verschließbar ist. Nachdem die Glaskammer auf dem Blatte (mit Gummi) angekittet ist, wird in der

[1]) F. E. Lloyd, Carnegie Institution, Washington 1908, Publication Nr. 82.
[2]) F. Darwin und M. Pertz, Proceed. of the r. Soc. B., Vol. 84, 136 (1911).

Richtung des Pfeiles angesaugt und dann der Quetschhahn M geschlossen, wodurch aus dem Wassergefäß eine Wassersäule, etwa bis A, emporsteigt. Durch die Spaltöffnungen wird in den luftverdünnten Raum in C Luft eingesaugt, und die Wassersäule fällt bis zu Punkt B. Durch wiederholtes Ansaugen kann die Wassersäule wieder zum Steigen gebracht und die Beobachtung beliebig oft wiederholt werden. Die Zeit, welche verstreicht, während die Säule etwa von A nach B sinkt, wird notiert und so eine Reihe von Ablesungen, die zur Bestimmung des Absinkmaßes beim Mitteldruck $\frac{1}{2}(A + B)$ dienen. Das Mittel ist gewöhnlich 20 cm Wassersäule, indem das Absinken des Meniskus zeitlich zwischen 23—17 cm oder 22—18 cm begrenzt wird, wie es eben am bequemsten ist. Das Kaliber der Röhre ist gewöhnlich so gewählt, daß 1 cm Länge 0,1 ccm entspricht. Es ist klar, daß, wenn aufeinanderfolgende Ablesungen bei einem bekannten Mitteldruck gemacht wurden, eine Verminderung der Spaltöffnungsweite die Wassersäule langsamer von A nach B sinken lassen wird. Die Zahl der Sekunden, welche beim Fallen der Wassersäule um eine bestimmte Höhe abgelesen werden, geben also geradezu die relative Weite der Spaltöffnungen an. Die beste Methode, die Glaskammer luftdicht und gleichzeitig ohne Schädigung des Blattes darauf zu befestigen, ist gewöhnlicher Leim, welcher sowohl am Glas als auch an der Blattfläche haftet und diese kaum schädigt. Der Leim wird auf zirka 30° C abkühlen gelassen und dann dick auf den Kammerrand aufgetragen, der sodann sanft auf die spaltöffnungsreiche Unterseite des Blattes so aufgedrückt und befestigt wird, wobei das Blatt auf einer horizontalen Glasplatte adjustiert ist. Eine andere Methode besteht darin, aus einer Lage 20—25 prozentiger Gelatine einen Ring, d. h. eine durchbohrte Scheibe von zirka 1 cm Dicke auszustechen und die Kammer fest auf den Ring niederzupressen und in dieser Lage zu befestigen. Hier muß das Blatt mit der Spaltöffnungsseite nach oben gerichtet und durch eine horizontale Glasplatte gestützt werden. Dieses Verfahren eignet sich besonders für lederartige Blätter, wie die von Ficus elastica, Prunus laurocerasus, Hedera helix usw., welche selbst beim Zusammenpressen zwischen Gelatine und Glasplatte nicht leiden; übrigens kann man mit der nötigen Vorsicht auch zartere Blätter diesem Verfahren unterziehen; Glyzerinzugabe zur Gelatine erweist sich als schädigend, ebenso Vaseline oder andere Substanzen, wie Fette usw. Die Porometermethode ist als eine direkte mit der mikroskopischen Probe zu vergleichen, indem bei beiden Werte sich ergeben, in welchen der durch die Stomata ziehende Gasstrom in keiner Weise durch den Wasserdampf beeinflußt ist, der durch dieselben Öffnungen dringt. Die

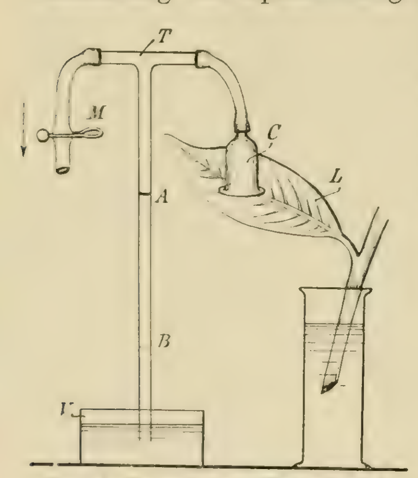


Fig. 146. Patometer von Darwin und Pertz.

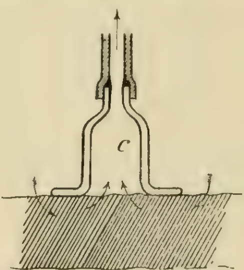


Fig. 147. Querschnitt der Glockenkammer des Potometers.

eben beschriebene Methode ist also scharf von den hygroskopischen zu trennen, sie dient nicht zur Messung der Transpirationsgröße, sondern mißt die jeweilige Weite der Spaltöffnungen (Fig. 148), die durch die hygroskopischen Methoden nur indirekt angegeben wird, wobei Änderungen der Öffnungsweite nur in sehr großen Zügen offenbar werden. Mit den genannten Methoden teilt das Porometer den großen Vorzug, eine kontinuierliche Methode zu sein, d. h. zu gestatten, daß ein Blatt durch längere Zeit beobachtet wird. Ferner beobachtet man hier das lebende Objekt, während bei Lloyds Verfahren das tote Blatt zum Versuche dient, wobei überdies jedem Versuche ein Blatt geopfert werden muß. Ein fernerer Vorteil des Porometers ist seine große Leistungsfähigkeit. Die Größe des Gasstromes kann in einem beleuchteten Blatt jene des verdunkelten Blattes um das vierhundertfache übertreffen. Darwin hatte Gelegenheit, mit dem viel empfindlicheren Porometer Ergebnisse zu bestätigen, die er Jahre vorher mit den hygroskopischen Methoden über das Welken von Blättern gemacht hatte, bei denen die Stomata offensichtlich noch lange offen waren, nachdem das Blatt aufgehört hatte mit dem Hornhygroskop zu reagieren.

Ein großer Vorteil des Lloydschen Verfahrens besteht darin, daß es absolute Werte liefert, d. h. es zeigt die wirkliche Weite der Spaltöffnung, während das Porometer nur relative Zahlen ergibt. Lloyds Methode leidet an dem Übelstande, daß an einem gegebenen Blatte und in einem gegebenen Zeitpunkt die Spaltöffnungen von 1 bis zu 10 Einheiten im Durchmesser wechselnd gefunden werden. Und da es unmöglich ist, auf jede Bestimmung unbegrenzte Zeit zu wenden, so folgt daraus, daß Lloyds Bestimmungen der Spaltöffnungsgrößen ziemlich ungenau sind. Das Porometer dagegen umfaßt in seinen Angaben einen Durchschnittswert von vielen hundert Spaltöffnungen bei jeder Ablesung; nun ist an einem gegebenen Zweig zu einer gegebenen Zeit bei den verschiedenen Blättern eine Vielheit von Spaltöffnungen in den verschiedensten Zuständen der Öffnungsweite vorhanden. Jeder Vergleich zwischen Transpiration und Spaltöffnungsweite, wenn er durch den Befund des Luftstromes an einem einzigen Blatte gezogen wurde, ist unzutreffend, da die Transpiration eines Zweiges von der durchschnittlichen Öffnung der Stomata einer Anzahl von Blättern abhängt, während der Wert des Luftstromes von dem Verhalten des einzelnen Blattes abhängt. Daher müssen, wie Lloyd selbst hervorhebt, bei seiner Methode zahlreiche Blätter geprüft werden.

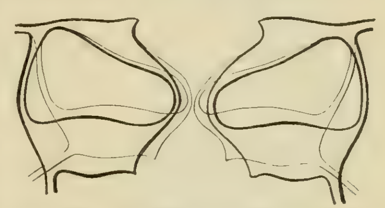


Fig. 148. Spaltöffnung (schematisch) in verschiedenen Weiten.

Infiltrationsmethode von H. Molisch: Die von Molisch[1]) beschriebene Methode, welche heute wohl als die leistungsfähigste bezeichnet werden muß, beruht auf dem Gedanken, daß es möglich sein müsse, daß Offensein der Spaltöffnungen dadurch zu demonstrieren, daß man auf die Stomata führende Epidermis Tropfen von Flüssigkeiten bringt, die rasch in sehr kleine Kapillaröffnungen einzudringen vermögen, wie sie durch die Spalten der Spaltöffnungsapparate repräsentiert werden. Die Flüssigkeiten, welche durch die

[1]) H. Molisch, Zeitschr. f. Bot. 4, 107 (1912).

Spalten rasch in die Atemhöhle und von hier aus in die Interzellularen des Schwammparenchyms des Blattes eintreten, infiltrieren also das Blattgewebe an der betreffenden Stelle, welche dann im auffallenden Lichte dunkel und im durchfallenden durchscheinend aussieht. Sind die Stomata geschlossen, dann unterbleibt natürlich die Infiltration. Das ist in sehr schöner Weise z. B. bei Verwendung von absolutem Alkohol der Fall, welcher binnen wenigen Sekunden in die Spalten eindringt und das Blatt in der obenbezeichneten Weise infiltriert (Fig. 149). Molisch arbeitet in der Weise, daß aus einem kleinen Stiftfläschchen durch den Stift oder durch eine Glasröhre der Tropfen auf das Blatt gebracht wird, wobei aber jede unsanfte Berührung und damit eventuell einhergehende Verwundung des Blattes unterbleiben muß. Als Folge der Infiltration zeigen sich entweder zahlreiche dunkle zerstreute Punkte oder größere zusammenfließende, respektive getrennt bleibende Inseln oder schließlich ein momentanes Dunkelwerden der ganzen vom Tropfen bedeckten Fläche. Sehr gute Resultate lieferten die turgeszenten, im starken diffusen oder direkten Sonnenlicht befindlichen Blätter von Syringa vulgaris, Stellaria media, Papaver somniferum, Senecio vulgaris, Plantago major, Urtica virens usw. Ein viel empfindlicheres Reagens als absoluter Alkohol ist Benzol, Xylol oder Terpentinöl; denn der Alkohol vermag unterhalb einer gewissen Spaltöffnungsweite nicht mehr einzutreten, die anderen genannten Flüssigkeiten aber wohl, wobei sehr oft das Xylol an Leistungsfähigkeit das Benzol übertrifft. Wenn der kapillare Widerstand einer zu engen Spalte das Eintreten auch dieser Flüssigkeiten unmöglich macht, dann sind sie als praktisch geschlossen zu betrachten. Äther und Chloroform sind wegen ihrer allzugroßen Flüchtigkeit, die namentlich beim Arbeiten im Freien die Infiltration nur sehr kurze Zeit andauern läßt, nicht zu empfehlen. Zunächst wird mit Alkohol geprüft; dringt dieser nicht ein, so sind die Spalten jedenfalls nur wenig offen, man geht dann mit dem nächstfeineren Indikator Benzol oder Xylol vor, die durch ihr eventuelles Eindringen zeigen, daß die Spaltöffnungen doch, wenn auch nur wenig, offen waren. Dabei hat man den Vorteil, daß Alkohol, wenn er nicht durch die Spalten eindringt, das Blattgewebe eine kleine Zeit unbeschädigt läßt, während Xylol, Benzol, Terpentinöl die Epidermiszellen sehr schnell töten, auch wenn sie nicht durch die Spalten eindringen. Dieses Durchdringen durch die geschlossene Wand der Oberhaut kann aber kaum zu einer Fehlerquelle werden, da sich die Infiltration durch die Spaltöffnungen sofort oder wenigstens nach sehr kurzer Zeit zeigt, während das Durchdringen durch die Oberhaut doch etwas länger in Anspruch nimmt, so daß man beides, besonders bei einiger Übung, leicht auseinanderhalten kann. Charakteristisch ist, daß beim Alkohol die Infiltration die von Tropfen bedeckte Fläche kaum jemals überschreitet, wohl aber bei Benzol, Xylol und ähnlichen Flüssigkeiten.



Fig. 149. Syringablatt nach Molisch infiltriert. Der lichte Streifen war verdunkelt, die Spaltöffnungen daher geschlossen gewesen.

Die großen Vorteile der Methode sind ihre Einfachheit, die Tatsache, daß die Frage nach dem Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen augenblicklich beantwortet, ad oculos demonstriert und auch

der Grad des Offenseins durch die verschiedenen Indikatoren angegeben wird. Über die Transpiration der Blätter allerdings sagt die Methode ebensowenig aus wie Darwins Porometer. Die Hygroskopmethode und die Kobaltprobe weisen also direkt auf die Transpiration hin, Molischs Infiltrationsmethode läßt das Offen- oder Geschlossensein der Spaltöffnungen erkennen und steht darin in einer Parallele mit Darwins Porometer, dessen Angaben ebenfalls von der Transpiration unabhängig und lediglich abhängig sind von der relativen Weite der Spalten; dabei ist aber zu bemerken, daß die Infiltrationsmethode einfacher ist und kein Instrument erfordert. Ferner kann das Offen- oder Geschlossensein der Spaltöffnungen sogar am trockenen, toten Blatte damit erkannt werden, während die Kobalt- und Hygroskopmethode in solchen Fällen natürlich ganz versagt, dagegen können geringe Differenzen in der Spaltenweite nicht angezeigt werden, während das mit dem Porometer möglich ist. Auf der Infiltrationsmethode von Molisch baut E. Stein[1]) eine Erweiterung derselben auf, indem sie die Reihe Petroläther, Petroleum und Paraffinum liquidum benutzt, welche Kohlenwasserstoffe infolge ihrer verschiedenartigen Viskosität die Öffnung der Spalten in drei Abstufungen beobachten läßt. Dringt Paraffin ein, so ist das ein Zeichen, für außerordentlich weit geöffnete Stomata; dringt Paraffin nicht, wohl aber Petroleum ein, so ist die Öffnung eine mittlere; Petroläther endlich dringt durch noch stärker verengte Spalten. Es ist also hier die Beobachtungsgrenze etwas weiter gesteckt, indem Paraffin in Spaltöffnungen nicht mehr eindringt, die für absoluten Alkohol geöffnet sind, während Petroläther noch den Weg in Interzellularen findet, die für Benzol und Xylol nicht mehr zugänglich sind; die für das Eindringen von flüssigem Paraffin nötige Spaltenweite wird überhaupt nicht von den Schließzellen aller Pflanzen erreicht.

Fig. 150. Schema des Denglerschen Infiltrationsapparates.

Eine Methode zum Infiltrieren auch von Koniferennadeln veröffentlichte A. Dengler[2]): Ein etwa 10 cm langes, an einem Ende zu geschmolzenes Stück Bleirohr (Fig. 150), das 0,8 cm lichte Weite und zirka 2,5 mm Wandstärke hat *b*, wird mit der Klinge des Taschenmessers auf der einen Seite mit etwa sechs kleinen Schlitzen versehen, welche dazu dienen, die zu untersuchenden Nadeln *n* mit etwas Spielraum aufzunehmen; die Wände des Schlitzes werden zur besseren Adhäsion etwas aufgerauht und die äußere Mündung des Schlitzes nach außen etwas trichterförmig erweitert, damit der Kitt, mit dem die Nadeln später befestigt werden, gut zusammengedrückt werden kann. Dann wird der Kitt — am besten das in den Apotheken in Stangenform erhältliche Bleipflaster, das sich in der warmen Hand gut kneten läßt und nach dem Erstarren erheblichen Druck aushält — in die Schlitze fest eingedrückt, in den Kitt mit einer kleinen Lanzette *r* ein Spalt gestoßen und die zu untersuchende, an ihrer

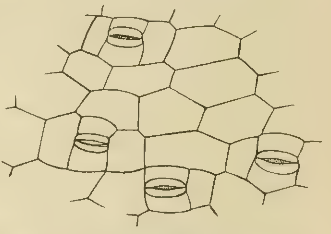
[1]) E. Stein, Ber. d. deutschen bot. Ges. **30**, 66 (1912).
[2]) A. Dengler, Ber. d. deutschen bot. Ges. **30**, 452 (1912); s. a. F. W. Neger, ebendas. **30**, 179 (1912).

Basis gekappte oder angestochene Nadel, die frisch abgepflückt worden ist, so in den Spalt geschoben, daß die geöffnete Stelle sich im Hohlraum der Röhre befindet. Mit Hilfe eines Modelliereisens wird dann der Kitt zu beiden Seiten der Nadel und besonders nach untenhin sorgfältig abgedichtet, so daß beim späteren Untertauchen keine Luftblasen durch etwaige Undichtigkeiten des Kittes aufsteigen; wäre das der Fall, so müßte die betreffende Stelle mit Filtrierpapier abgetrocknet und nachgedichtet werden. Das Bleirohr mit den Nadeln wird dann durch einen Druckschlauch S mit einer Druckpumpe (etwa wie sie zum Aufpumpen von Fahrradschläuchen verwendet wird) verbunden, bei welcher die Führungsstange des Kolbens mit Marken versehen und bis zu einer bestimmten Marke hineingeschoben wird. Je nach dem Zustande des Spaltöffnungsapparates erfolgt nun bei der Kompression ein größerer oder geringerer Austritt von Luftblasen l an der spaltöffnungführenden Nadelfläche, den man beim Untertauchen in einer flachen Schale mit Wasser mit Auge oder Lupe verfolgen kann. Die einzelnen Stufen der Blasenbildung wären dann mit Hilfe einer ad hoc festzusetzenden Skala einzuschätzen, nachdem eine Zählung der Luftblasen, die bei einem bestimmten Druck auf der Nadeloberfläche erscheinen, nicht möglich ist, weil sie sich sehr schnell ablösen, zerfließen, zerplatzen, weil es ja ferner nicht nur auf die Zahl, sondern auch auf die Größe der Blasen ankommt. Dengler bildet sechs Stufen, von 0 an, wo keine Blase auftritt, über Stufe 4, bei der die Nadel ganz dicht mit Blasen bedeckt ist, und Stufe 5, wo außer dieser Blasenbedeckung noch ein lebhaftes Perlen auftritt, bis zu Stufe 6, dem Maximum dieser Erscheinungen, während auf Stufe 1 nur wenige kleine Blasen auftreten; auf Stufe 2 erscheint dann etwa die Hälfte der Blasenanzahl, welche bei voller Bedeckung auftreten würde; natürlich kann man zwischen diesen Stufen noch Zwischenglieder einschalten. Diese sehr bedenkliche Unsicherheit welche in der subjektiven Schätzung gelegen ist, sucht Dengler dadurch zu vermeiden, daß er das Bleirohr nicht mit einer Druckpumpe, sondern mit einem Quecksilbermanometer M verbindet, dessen Schenkel durch einen dickwandigen Kautschukschlauch zusammenhängen und gegeneinander verschiebbar sind. Dadurch kann man in dem einen Schenkel einen beliebigen Überdruck erzeugen und dessen Ausgleich auf dem Wege durch die Spaltöffnungen zeitlich messen; an einem zwischen den beiden Manometerschenkeln angebrachten Maßstab kann man die Höhe des Überdruckes bestimmen: so wäre also ein zahlenmäßig darstellbares Maß für die Durchlässigkeit und damit für die Öffnungsweite der Spaltöffnungen gegeben. Es ist klar, daß diese Methode nur bei großer Übung im Abschätzen und nur für Vergleichswerte ein brauchbares Ergebnis liefern und hauptsächlich dort Dienste leisten wird, wo es sich darum handelt, Resultate, die mit anderen Methoden gefunden wurden, zu überprüfen; ihre besondere Verwendbarkeit liegt ferner dort, wo die einfache und sichere Infiltrationsmethode von Molisch keine Anwendung finden kann, also bei den Koniferennadeln.

Das Verfahren von L. Buscalioni und G. Pollacci[1]) beruht auf der Fähigkeit des Kollodiums bei Berührung mit Spuren von Wasser auszufallen. Es wird eine verschieden starke Lösung von Kollodium in Alko-

[1]) L. Buscalioni und G. Pollacci, Atti de R. Istituto Botanico dell' universita di Pavia, Vol. VII (1901).

hol oder Äther verwendet, da es auf die Natur des transpirierenden Organs (Dicke der Kutikula, Zahl der Spaltöffnungen usw.) ankommt, ob das Kollodium kürzere oder längere Zeit flüssig bleibt. Die Lösung wird mit einem Pinsel auf die zu prüfende Organoberfläche in dünner Schicht aufgetragen, frei von Luftblasen; in wenigen Minuten ist bei Zimmertemperatur das Lösungsmittel des Kollodiums verdunstet, das Reagens bildet dann ein trockenes Häutchen, welche das Organ genau in dem Zustande bedeckt, in welchem es aufgetragen worden war und ihm anhaftet (Fig. 151), aber mittels einer Pinzette mit Leichtigkeit abgezogen werden kann; das Lostrennen erfolgt übrigens bei der Zusammenziehung des Häutchens von selbst. Während des Eintrocknens des Kollodiums beobachtet man, daß, wenn das untersuchte Organ wenig oder gar nicht transpiriert, das Häutchen durchscheinend bleibt, während es bei einigermaßen vor sich gehender Transpiration bald eine milchähnliche Färbung annimmt, die um so intensiver wird, je stärker die Wasserabgabe erfolgt. Das Abnehmen der Häutchen ist schwieriger und mitunter nicht ohne Zerreißen möglich, wenn die Oberfläche des betreffenden Organs rauh, haarig oder dergleichen ist. Um gute Resultate zu erhalten, muß man mit verschieden konzentrierten Lösungen arbeiten; außerdem ist es unter manchen Verhältnissen gut, die kollodiumbestrichenen Organe einige Zeit in einem luftverdünnten und mit Ätherdampf erfüllten Raume zu halten, um das Austrocknen des Kollodiums zu verzögern. Die Kollodiumhäutchen können nunmehr der mikroskopischen Untersuchung unterworfen werden, sie tragen den genauen Abdruck des Gewebes, an dem sie gehaftet hatten, und gestatten somit die Erkennung des Zustandes, in welchem sich die transpirierenden Organe im Momente des Auftragens des Häutchens befunden hatten. Das Häutchen wird auf einem Objektträger aufgespannt und dieser ganz mit einem Deckglas bedeckt, das den Zweck hat, das Häutchen anzuspannen; das Einschließen in Wasser oder in einer anderen Flüssigkeit unterbleibt besser.


Fig. 151. Kollodiumhäutchen mit abgeprägten Stomata.

Quantitative Methoden.

Die zuverlässigsten Resultate werden erreicht, wenn man die gesamte Versuchspflanze vor und nach dem Versuch wägt und aus der Gewichtsdifferenz auf die Menge des verdunsteten Wassers schließt. Hierbei sind einige Vorsichtsmaßregeln zu beachten; vor allem muß dafür gesorgt werden, daß die mechanische Verdunstung des Wassers aus dem Kulturgefäße und aus der Kulturerde möglichst ausgeschlossen sei; am besten ist es, Glasgefäße oder solche aus glasiertem Steingut ohne durchlochte Bodenplatte zu verwenden, poröses Tongeschirr kann man durch Eintauchen in geschmolzenes Paraffin leicht luftdicht machen. Natürlich muß auch der Kulturboden selbst gegen Verdunstung geschützt sein, was am leichtesten durch Belegen mit Stanniol oder Guttapercha geschieht; freilich kann durch bleihaltiges Stanniol eine Schädigung der Kulturpflanzen erfolgen. Die Öffnungen, welche zwecks Durchtretens des Stammes

oder, wenn es sich um Keimpflanzen handelt, zum Einstecken des Würzelchens beim angekeimten Samen in den Nährboden, in die Bodenbedeckung gebohrt werden müssen, können mit Vaseline oder Paraffin zugeschmiert werden. Ich habe wiederholt mit Vorteil Weichparaffin zur Bedeckung des Bodens benutzt, welches sogar über die Kulturerde im Gartentopf gegossen werden kann, wenn schon die Pflanzen eingewurzelt sind, denn eine Temperatur von höchstens 40 ⁰ C, bei welcher das Paraffin noch gießbar ist, schädigt die Pflanzen keineswegs und das Weichparaffin, welches leicht knetbar ist, läßt sich leicht an den betreffenden Pflanzenteil andrücken, so daß ein absolut dampfdichter Verschluß geschaffen ist. Kann man den Boden vor dem Einsetzen der angekeimten Samen mit dem Paraffin übergießen, so sticht man in die Decke mit einer Nadel beliebig weite Löcher, setzt die Pflanzen ein und drückt, am besten nach einigen Tagen, wenn sich die Pflanzen erhoben haben, das Paraffin so zurecht, daß die kleine Öffnung vollkommen verschmiert ist. Bei Wasserkulturen erfolgt der Abschluß der verdunstenden Wasseroberfläche gewöhnlich mit einer 3—4 cm hohen Schicht von Olivenöl *Oe* (Fig. 152). Abgesehen davon, daß unter dieser Schicht die Wurzeln bei halbwegs länger andauernden Versuchen unter Sauerstoffmangel leiden, dringt das Öl doch auch nach relativ kurzer Zeit in die Pflanze. Zweckmäßiger ist es, nach dem Vorgange J. Gicklhorns die Bedeckung des Kulturglases nicht mit Organtin, sondern mit Leinwand vorzunehmen, die in geschmolzenes Paraffin getaucht worden war; dieses Verfahren ist bereits auf S. 63 beschrieben worden. Zur Messung der ausnützbaren Bodenfeuchtigkeit bedienten sich L. J. Briggs und H. L. Shantz [1]) zur Bedeckung des Kulturbodens einer Mischung von Paraffin, Paraffinöl, Bienenwachs und Rindstalg (80 % Paraffin, Schmelzp. 45 ⁰ C, 20 % Paraffinöl), welche Mischung bei sehr niederer Temperatur schmilzt und sich beim Erkalten an Glas und Pflanze fest anlegt. Auf ähnlichen Prinzipien basiert C. Hoffmanns Methode der schwimmenden Paraffinblöcke (Paraffin Blocks for growing seedlings in liquid culture solutions, Centralbl. f. Bakter. II, 33, 430 (1912), welche leicht in beliebige Form gegossen und mit Pfriemen für das Durchstecken der Würzelchen durchstochen werden können und vor den Korkverschlüssen jedenfalls den Vorteil haben, die Nährlösung nicht zu verunreinigen. Auch Drahtstützen für krautige Pflanzen lassen sich in ihnen leicht befestigen.

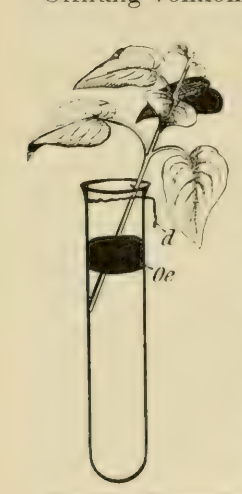


Fig. 152. Eprouvette mit transpirierendem Pflanzensproß, zum Aufhängen an die Wage adjustiert.

Wenn man Topfpflanzen aus ihrem Kulturboden in das auf die Wage zu stellende Gefäß überträgt, respektive die Erde samt der darin wurzelnden Pflanze, so darf das nicht unmittelbar vor Anstellung des Transpirationsversuches geschehen, weil dabei die feinsten Wurzelenden, welche gerade für die Wasseraufnahme sehr wichtig sind, leicht abgerissen oder verletzt werden; das ist namentlich dann der Fall,

[1]) L. J. Briggs und H. L. Shantz, A wax seal method for determining the lower limit of available soil moisture, Bot. Gaz. 51, 210 (1911).

wenn das Ausheben nicht aus einem anderen Kulturgefäß, sondern direkt aus der Erde des Gartenbeetes, etwa mit dem Spaten erfolgt. Soll der Versuch sich über mehrere Tage erstrecken, so ist für den Ersatz des Wassers Sorge zu tragen, welches die Pflanze dem Boden entzogen hat, denn der Wassergehalt des Bodens übt einen verändernden Einfluß auf die Transpirationsgröße. Am bequemsten ist eine solche Wasserzufuhr, wenn die Bedeckung des Kulturbodens mit zwei halbkreisförmigen Glasplatten erfolgt war, von denen jede zentral eine Ausnehmung besitzt, welche beiden Ausnehmungen beim Zusammenlegen der Platten einen Hohlkreis zum Durchtritte des Stammes bilden, wobei die noch offen bleibenden Lochteile durch Paraffin oder dergleichen verschlossen werden können. In eine solche Glasplatte, respektive in eine Bohrung derselben, kann dann durch einen Kautschukstöpsel die mit eingeriebenem Stöpsel versehene Röhre eingeführt sein, durch die das Wasser in den Kulturboden einfließen gelassen werden kann. Wenn der Versuch längere Zeit dauert, vergrößert die Pflanze ihre Blattoberfläche und ihr Gewicht; selbstredend wäre dadurch ein Fehler in der Rechnung bedingt, wie ja überhaupt neben der Gewichtsveränderung durch Wasserverlust die Gewichtsveränderungen durch Zunahme an Pflanzensubstanz durch Kohlensäureassimilation und deren Abnahme durch Atmung Hand in Hand gehen. Bei Keimpflanzen von Phaseolus vulgaris überwiegen beispielsweise die Verluste durch Atmung die Assimilationszuwächse anfangs so bedeutend, daß bis zum 21. Kulturtage die Trockensubstanz der Keimpflanze noch nicht die Trockensubstanz des Samens erreicht, aus dem sie sich entwickelt hat. Man wird daher, um diese Fehlerquelle soviel wie möglich zu vermeiden, die Transpirationsmessungen auf die Gewichts- oder noch besser auf die Flächeneinheit beziehen; aber selbst in diesem Falle sind womöglich langsamwüchsige Pflanzen für den Versuch zu wählen, bei denen die Vergrößerung der Blattoberfläche nicht allzusehr in Betracht kommt. Die Verwendung von Nährlösungen an Stelle fester Nährböden bietet vor allem den Vorteil, daß man die Ausbildung des Wurzelsystems besser beobachten kann; es hat sich nämlich gezeigt, daß die Ausbildung des Wurzelkörpers die Transpiration beträchtlich beeinflußt, so daß dieselbe Blattfläche eine viel bedeutendere Transpirationsgröße zeigt, wenn der Wurzelkörper stärker ist, als wenn er mangelhaft ausgebildet ist, ja, eine Erkrankung des Wurzelsystems kann unter Umständen die Transpiration gegenüber einem wurzelgesunden Exemplar derselben Blattoberfläche um die Hälfte herabsetzen. Das ist besonders dann wichtig, wenn man für den Versuch möglichst gleiche Exemplare auswählt, wobei also nicht nur die gleiche Ausbildung der oberirdischen Organe, sondern auch die des Wurzelsystems leicht beobachtet werden kann. Ferner darf man nicht Pflanzen der Erdkultur zur Anstellung des Transpirationsversuches in Wasserkultur übertragen oder Pflanzen der Wasserkultur mit solchen der Landkultur bezüglich der Transpiration vergleichen, denn Versuche von Giltay[1]) haben ergeben, daß die letzteren mehr als doppelt so stark transpirierten wie die ersteren nämlich im Verhältnis 27 : 13 während des Tages zu 19 : 12 während der Nacht, daß sie von der Witterung betreffs der Transpiration viel stärker beeinflußt werden und daß die Wasserabgabe bei Pflanzen der Wasserkultur von Tag zu

[1]) E. Giltay, Beihefte z. Botan. Zentralbl. 9, 112 (1900).

Tag abnimmt. Ferner ist es zweckmäßig, den Teil des Kulturgefäßes, welcher das Wurzelsystem umschließt, mit einer lichtdichten Umhüllung zu versehen. Die Versuchsdauer mit einzelnen Blättern oder abgeschnittenen Zweigen sollte sich nur auf höchstens einige Stunden ausdehnen und die Zweige unter Wasser abgeschnitten werden. Hier wird es sich natürlich immer empfehlen, in Kulturflüssigkeiten zu arbeiten, in die das Objekt durch einen halbierten, zentralgebohrten Kork (analog den oben erwähnten Glasplattenhälften) befestigt wird, wobei die beiden Korkhälften den Stammteil des Versuchsobjektes zwischen sich nehmen. Freilich kann es sich bei dieser Versuchsanstellung an zarteren Stengeln leicht ereignen, daß durch Quetschung die Wasserleitung abnorm gestaltet wird. Kleinere Zweige, Blüten, Blätter usw. adjustiert man deshalb lieber in kleinen Eprouvetten mittels dünnen Blumendrahtes wie in Fig. 152. Um den Rand der Eprouvette läuft ein stärkerer, an seinem freien Ende hakenförmig umgebogener Draht *d*, mittels dessen man die ganze Eprouvette an der Wage aufhängen kann, wobei die Verdunstung der Nährlösung an der Oberfläche in der Eprouvette durch aufgeschüttetes Olivenöl verhindert wird.

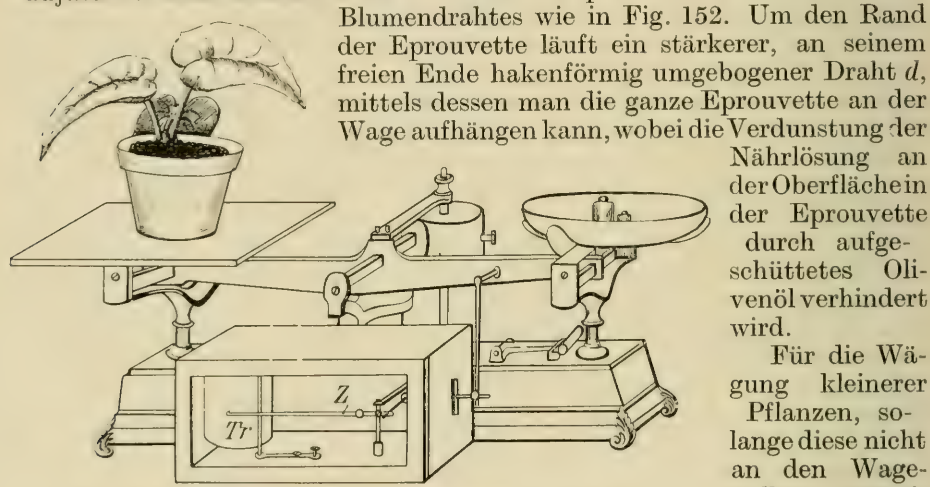


Fig. 153. Evaporomètre enregistreur von Richard Frères, Paris.

Für die Wägung kleinerer Pflanzen, solange diese nicht an den Wagebalken anstreifen, dienen die gewöhnlichen analytischen Wagen, aber auch große Objekte mit vielen Kilo Gewicht können auf großen, eigens konstruierten Hebelwagen mit einer Genauigkeit von 0,1 g per 20 kg jederseitiger Belastung gewogen werden. Gute Dienste leistet die selbstregistrierende Wage von Richard frères, Paris, das evaporomètre enregistreur (Fig. 153), eine Tarawage, auf deren eine Wagschale zu Beginn des Versuches die im Blumentopf entsprechend adjustierte Pflanze gestellt wird, worauf man durch entsprechendes Auflegen von Gewichten auf die andere Wagschale genau äquilibriert. Mit dieser Wagschale steht durch eine Hebelübertragung ein Schreibhebel *Z* in Verbindung, der auf einem mittels Uhrwerkes rotierenden Zylinder *Tr* streift, auf den das Registrierpapier aufgezogen ist. Hebt sich bei Wasserverlust die Wagschale mit dem Blumentopf, so sinkt die andere, mit welcher der Schreibhebel in Verbindung steht, so daß dieser seine registrierende Schreibbewegung auf dem Registrierpapier ausführt. Ein Laufgewicht ermöglicht eine verschiedene Einstellung des Schwerpunktes der Wage zum Mittelpunkt der Drehachse und damit eine Regulierung der Empfindlichkeit je nach der Schwere des Versuchsobjektes; eine andere Einrichtung ermöglicht auch die Anwendung dieser Wage zu Versuchen im Freien, indem sie deren Oszillation durch Windbewegung verhindert. Statt

der Konstatierung der Gewichtsverluste in bestimmten Zeiten kann man umgekehrt auch bestimmen, in welchen Zeitteilchen das Versuchsobjekt einen bestimmten Gewichtsverlust erfährt: man äquilibriert dann die Wage, hebt eine kleines Gewicht ab und notiert die Zeit, welche verstreicht, bis der Wasserverlust des Objektes die Wage wieder in Balance bringt, und operiert in dieser Weise mehrere Male. Die bis zur Erreichung des Gleichgewichtes notwendigerweise verstreichende Zeitdauer steht in umgekehrter Proportion zur Transpirationsgröße.

Statt der Wägung kann man auch den von der Pflanze abgegebenen Wasserdampf volumetrisch oder gewichtsanalytisch messen, indem man das Wasser von irgendeiner hygroskopischen Substanz, ambesten Chlorkalzium, absorbieren läßt oder indem man den kondensierten Wasserdampf als tropfbar flüssiges Wasser aufsammelt. Wenn diese Methode dem Chemiker naturgemäß am nächsten liegt, wird sie doch beim Physiologen wenig Beifall finden, denn die Behandlung des Versuchsobjektes bei diesem Verfahren ist durchaus nicht den natürlichen Verhältnissen entsprechend. Im Falle der Aufsammlung des kondensierten Wassers muß die Pflanze oder der mit der eingewurzelten Pflanze in Verbindung stehende Pflanzenteil in einem Glasgefäß luftdicht eingeschlossen sein, wobei durch eine entsprechende Ablaßvorrichtung für die Entfernung des kondensierten Wassers Sorge getragen wird. Für kleine Pflanzen oder kleinere Pflanzenteile ist diese Methode überhaupt nicht verwendbar, weil nur größere Mengen kondensierten Wassers eine annähernd verwendbare Bestimmung ermöglichen; dabei muß, wenn mit einem Zweig experimentiert wird, der in natürlicher Verbindung mit einer Topfpflanze steht, wobei also der betreffende Zweig in einen Ballon hineinragt, dessen Tubus an der Abzweigungsstelle des Astes vom Stamm mit Guttapercha oder dergleichen gasdicht verschlossen ist, die Erde des Topfes ausgiebig begossen werden (über die Verwendung von S. Bakers automatischer Bewässerungsvorrichtung s. Fig. 80 auf pag. 267), weil sonst die anderen, frei transpirierenden Sprosse der Pflanze dem im Glasballon eingeschlossenen Zweige Wasser entziehen. Dazu kommt, daß überhaupt die Transpirationsgröße solcher eingeschlossener Pflanzenteile beträchtlich vermindert ist, weil das Glasgefäß sehr bald dunstgesättigt ist; arbeitet man im Dunkeln, so häuft sich auch die Atmungskohlensäure bis zu einem schädigenden Maße an, während im Lichte diese Kohlensäure wohl im Prozesse der Assimilation wieder Verwendung findet. Solche Versuche können also jedenfalls nur von kurzer Dauer sein, wobei aber wieder, wenigstens bei kleineren Pflanzenteilen, die Menge des erhaltenen Wassers ungenügend ist. Läßt man das abgegebene Wasser durch $CaCl_2$ oder dergleichen absorbieren, so vermeidet man diesen Übelstand, schafft aber freilich mitunter zu trockene Lufträume. Zweckmäßiger ist es in diesem Falle, das mit $CaCl_2$ beschickte Gefäß nicht unter dieselbe Glocke zu bringen, unter welcher die Versuchspflanze steht, sondern dasselbe durch einen dickwandigen Kautschukschlauch mit derselben zu verbinden; man verwendet dann Röhren mit $CaCl_2$ wie bei der Elementaranalyse, während die Versuchsglocke mit einem paraffiniertem Korkstöpsel verschlossen ist, der in seinen beiden Bohrungen eine kurze und eine lange, rechtwinklig gebogene Glasröhre trägt, die mit den Kautschukschläuchen versehen sind, an welchen sich Quetschhähne befinden. Nach einer bestimmten Versuchszeit saugt man mittels Aspirators die Luft aus der Glocke in die vor-

gelegten gewogenen $CaCl_2$-Röhren, wobei natürlich die Quetschhähne geöffnet und das lange Glasrohr, durch welches die Außenluft eingesaugt wird, mit einem vorgelegten Wasser absorbierendem Medium versorgt werden, welches dazu dient, die äußere Luft vor ihrem Eindringen zu trocknen. Nach einiger Zeit des Durchsaugens schließt man wieder die Quetschhähne und vermeidet so, die Gefahr des wasserdampferfüllten und auch des zu trockenen Raumes. Es wäre noch zu bemerken, daß der Luftabschluß einer solchen Glocke nie durch Quecksilber bewirkt werden darf, dessen Dämpfe die Versuchspflanze schwer schädigen. Am besten ist es, eine auf Glasplatten aufgeschliffene Glocke zu verwenden, die durch Vaseline auf die Glasplatte gedichtet ist. Den Stöpsel für den oberen Tubus der Glocke kann man entweder (nach dem

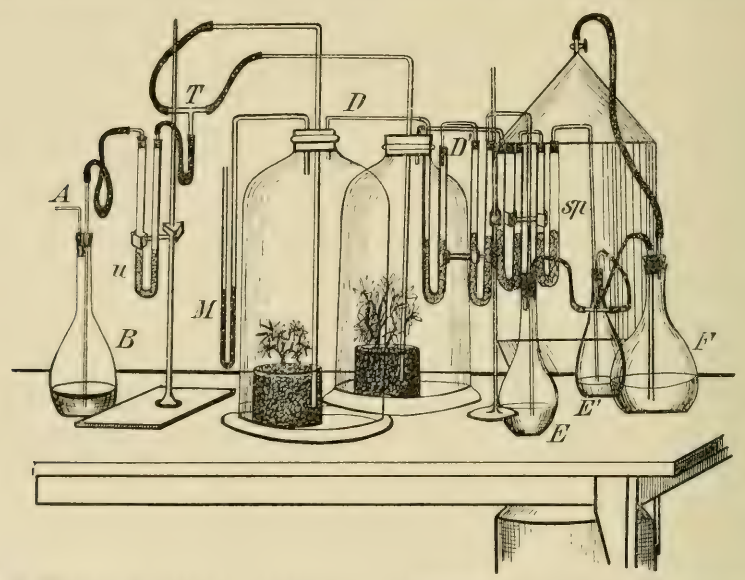


Fig. 154. Apparat von Geneau de Lamarlière zur Bestimmung der relativen Transpirationsgrößen von Sonnen- und Schattenblättern.

festen Einsetzen in den Tubus) paraffinieren oder mit Kollodium übergießen oder durch belichtetes Kaliumchromat abdichten.

Um die relativen Transpirationsgrößen von Sonnen- und Schattenblättern zu bestimmen, hat Geneau de Lamarlière [1]) folgenden Apparat (Fig. 154) konstruiert: Die durch einen Aspirators angesaugte Luft passiert zuerst die mit Schwefelsäure gefüllte Flasche *B* zur Absorption des Wassers, dann das mit Ätzkalistücken beschickte Rohr *u*, um mitgerissene Schwefelsäure aufzufangen, um sich dann im T-Rohr *T* zu teilen und in die beiden luftdicht aufgeschliffenen und verschlossenen Glocken geleitet zu werden. Unter der einen Glocke steht die Sonnen-, unter der anderen die Schattenpflanze. Die aus den Glocken durch *D* austretende Luft durchzieht je zwei mit $CaCl_2$ gefüllte, gewogene U-Röhren *D'*, welche den von den Pflanzen abgegebenen Wasserdampf auffangen. Den U-Röhren sind die Schwefelsäureflaschen *E* und *E'*

[1]) L. Geneau de Lamarlière, Révue gén. de Bot. 4, 529 (1892).

vorgelegt, um keine Feuchtigkeit aus dem Aspirator *sp* hineingelangen zu lassen. Ein Rohr vereinigt die Luftströme wieder, die durch die Wasserflasche *F*, die mitgerissene Schwefelsäure auffängt, zum Aspirator ziehen. *M* ist ein Manometer, das den unter den Glocken herrschenden Luftdruck anzeigt.

Verschaffelt[1]) hat einen Apparat (Fig. 155) gebaut, um den Einfluß des Kohlendioxyds auf die Wasserdampfabgabe zu bestimmen. In der Zeichnung ist nur die eine Hälfte des symmetrischen Apparates dargestellt, nur daß in der linken Hälfte das eine Gefäß *tr* mit Ätzkali fehlt. Auf einem Gestell befindet sich beiderseits unter einer zylindrischen Glasglocke *Z* und *P* je ein Exemplar der Versuchspflanze, deren Wurzelsystem in die Nährstofflösung (das Gefäß ist auf der Zeichnung nicht sichtbar) taucht. Durch beide Glocken, deren Temperatur durch ein Thermometer gemessen wird, wird Luft gesaugt, welche die Waschflasche *fl* passiert, an das Ätzkali und $CaCl_2$ in den beiden Türmen *tr* Kohlendioxyd und Wasserdampf abgibt, und dann in den Versuchszylinder *P* gelangt, von wo sie mit dem Transpirationsdampf der Pflanze beladen, durch Rohr und Schlauch *b* zu dem gewogenen u-förmigen $CaCl_2$-Rohr *w* und aus diesem durch den mit Hahn verschließbaren Schlauch *s* zum Aspirator gelangt. Die andere Hälfte des Apparates hat dieselbe Einrichtung, nur daß die Versuchspflanze dort infolge Fehlens des Kaliturmes trockene kohlensäurehaltige Luft erhält.

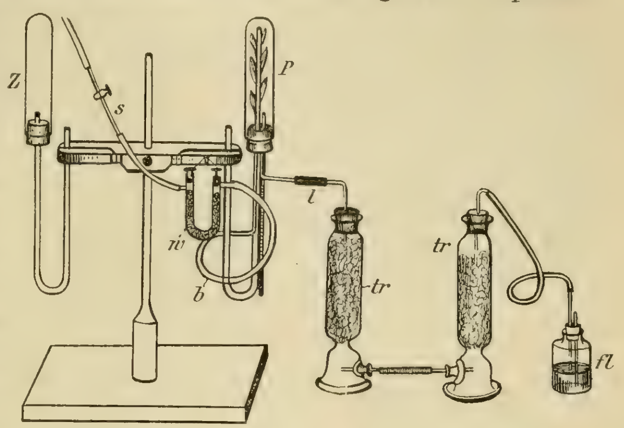


Fig. 155. Apparat von Verschaffelt.

Eines besonderen Apparates (Fig. 156) bediente sich Hellriegel[2]), um den Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf den Ernteertrag von Gerstenpflanzen und auf die Transpiration kennen zu lernen. Auf den Pfosten *A* wird eine 120 cm hohe Glasglocke aufgesetzt, die, in einer eingeingeschnittenen Rinne desselben stehend, am Rande mit einer Mischung von Wachs, Harz und Paraffin luftdicht verkittet wird. Die obere Mündung der Glocke wird durch die gebogene Glasröhre *a* mit der Zinkblechbüchse *C*

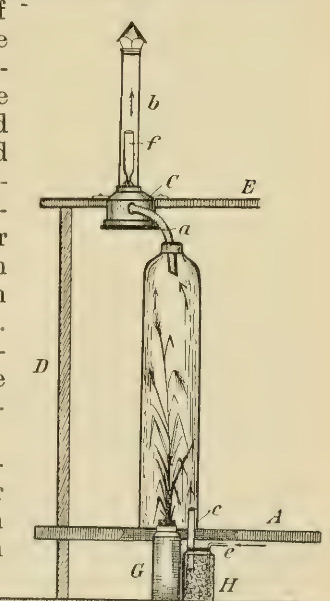


Fig. 156. Apparat von Hellriegel.

[1]) E. Verschaffelt, Botanisch Jahrboek uitgegeven door het kruitkindig genostschap „Dodonaea" te Gent 2, 305 (1890).

[2]) H. Hellriegel, Beiträge zu den naturw. Grundlagen des Ackerbaues. Braunschweig 1883.

verbunden, die an dem Pfosten *E* angeschraubt ist, der seinerseits wieder von der Säule *D* getragen wird. In der Mitte des Büchsendeckels befindet sich eine zirka 4 cm weite Öffnung mit kurzem Rohrstutzen, der zum Einsetzen einer 66 cm hohen Glasröhre *b* dient, die am Ende zum Schutze gegen mechanische äußere Einflüsse eine Blechkappe trägt. Der Boden der Büchse *C* kann durch einen Bajonettverschluß leicht auf- und abgeschraubt werden, so daß eine Petroleumlampe *f* leicht eingeschoben und entfernt werden kann. In den Pfosten unterhalb der Glocke sind zwei Öffnungen eingesägt; die zentral gelegene dient zur Aufnahme des oberen Teiles vom Kulturgefäß *G*, die andere kleinere, seitliche trägt das Glasrohr *c*, das den Eintritt der Außenluft ermöglicht. Nach Einsetzen der Lampe in *C* entsteht ein lebhafter Luftzug in der Pfeilrichtung. Nach Belieben kann durch *c* trockene oder feuchte Luft eingelassen werden, je nachdem man das zirka 2 Liter enthaltende Gefäß *H* mit schwefelsäuregetränktem Bimsstein oder mit einer 1—1½ cm hohen Wasserschicht beschickt, in der sich ein schlangenförmig gebogener und mit Filtrierpapierstreifen dicht behängter Glasstab befand. Die Vegetation von Gerstenpflanzen in einer solchen Glocke ist eine durchaus normale, auch wenn sie monatelang darin verweilen; die Verdunstungsgröße der Pflanzen kann durch tägliche Wägung der Gewichtsabnahme der Gefäße ermittelt werden.

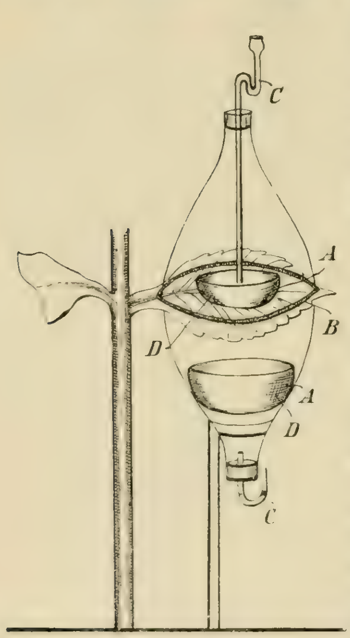


Fig. 157. Garreaus Apparat zur Bestimmung der Transpiration beider Blattseiten.

Bei dorsiventral gebauten Blättern führt die Blattoberseite ungleich weniger Stomata als die Unterseite, aber auch andere anatomische Verschiedenheiten bewirken, daß die Unterseite wesentlich mehr Wasserdampf abgibt als die Oberseite. Jedenfalls ist es oft wünschenswert, einen Vergleich der Transpirationsgröße bei den beiden Blattseiten zu ziehen. Einen Apparat (Fig. 157) zur experimentellen Bestimmung eines solchen hat M. Garreau[1]) konstruiert: *AA* sind trichterförmige Glasbecher, deren jeder am Rande einen Leinwandring *B* trägt, der mit einer Mischung von Wachs und Burgunderpech bestrichen und dann mit feinem Fett eingeschmiert ist, so daß er nach leichtem Druck fest an der Blattfläche haftet. Jeder Becher enthält ein Schälchen *D* mit $CaCl_2$ und trägt an seinem Ende, durch einen Kautschukstöpsel eingesetzt, ein gebogenes Röhrchen *C* mit einem Tropfen Öl zur Absperrung der äußeren Luft. Die Schalen mit dem $CaCl_2$ werden vor und nach dem Versuch gewogen, das Chlorkalzium darf aber in nicht zu großer Menge enthalten sein, um den Luftraum nicht zu sehr auszutrocknen.

Eine viel benutzte Methode beruht in der Messung des von der Pflanze aufgenommenen statt in der Bestimmung des durch Transpiration abgegebenen Wassers. Freilich muß man sich bewußt bleiben, daß man es

[1]) M. Garreau, Anm. sciences nat. Bot. (3) **13**, 321 (1849).

mit einem Lebewesen zu tun hat, bei dem es sich also nicht verhält wie bei einem Schwamm, bei dem allenfalls das eingesogene Wasser sowohl durch Abnahme des Wassers in dem Aufnahmegefäß, als auch durch Wägung des aus dem Schwamm ausdrückbaren Wassers bestimmen kann, mit anderen Worten, daß Wasseraufnahme und Wasserabgabe durch die Pflanze zwei voneinander physiologisch geschiedene Vorgänge sind, die nicht ohne weiteres quantitativ miteinander in kausale Verbindung gebracht werden können; nur bei länger andauernden Versuchen, nicht aber bei kürzeren Ablesungen ist ein gewisser Parallelismus vorhanden, während der Assimilationstätigkeit wird überdies ein Teil des aufgenommenen Wassers chemisch verwendet usw. Keinesfalls kann man also statt Transpirationsgröße einfach Aufnahmegröße des Wassers setzen, dazu kommt noch, daß Veränderungen der äußeren Verhältnisse, wie Temperatur, Licht usw., die beiden Prozesse in verschiedener Weise beeinflussen, daß auch innere Verhältnisse der Pflanze in verschiedener Weise auf dieselben Einfluß nehmen können. Eine zartblätterige Pflanze aus einem kühleren Raum in einen wärmeren, aus dem zerstreuten Tageslicht in direktes Sonnenlicht gebracht, wird viel mehr Wasser durch Transpiration abgeben, als die Wurzeln aus dem Nährsubstrat aufnehmen können, die Pflanze wird im extremen Falle trotz reichlicher Wasserzufuhr welken; wurde dagegen bei einer Topfpflanze der Boden trocken werden gelassen, so wird bei folgendem Begießen zunächst das Einsaugen des Wassers die Abgabe bei weitem übertreffen, eine konstante Parallelität ist also in keinem Falle gegeben. Immerhin ist unter konstanten äußeren Verhältnissen und längerer Versuchsdauer die Methode auch für die Erlangung von approximativen Transpirationswerten geeignet. Auf alle Fälle aber ist es vielfach eine Aufgabe für sich und physiologisch wünschenswert, die Menge des von einer Pflanze unter bestimmten Verhältnissen und in einer bestimmten Zeit zu kennen.

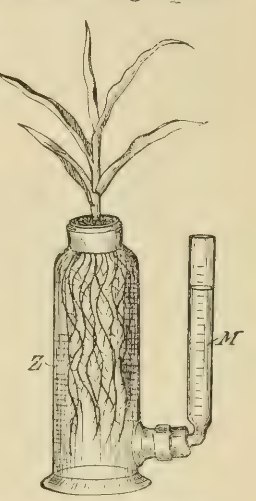


Fig. 158. Pfeffers Apparat zur Bestimmung von Wasseraufnahme und -abgabe.

Wenn es mit einem Apparat möglich ist, sowohl den Betrag der Wasseraufnahme als auch den der Wasserabgabe zu bestimmen, ist die Beantwortung zweier physiologischer Fragen gegeben, man darf nur nicht in den einzelnen Versuchszeiten eine Übereinstimmung beider Werte erwarten, da, wie bereits erwähnt, die physiologischen Vorgänge der Wasseraufnahme und Wasserabgabe Leistungen der Pflanze entsprechen, die getrennt ablaufen und auch verschiedentlich beeinflußt werden. Pfeffer beschreibt (Pflanzenphysiologie I, S. 214) einen sehr einfachen derartigen Apparat (Fig. 158), bestehend aus einem graduierten Gefäß nach Art eines Meßzylinders *Z*, dessen obere Öffnung aber verengert und in welcher die Versuchspflanze mit Hilfe eines Stöpsels luftdicht befestigt ist; in der Nähe des Bodens besitzt der Zylinder einen Tubus, welcher, mit einem Kautschukstöpsel versehen, das rechtwinklig gebogene, mit einer Maßeinteilung versehene, mit dem Zylinder kommunizierende Glasrohr *M* trägt. Auch hier wird das Ursprungsgewicht des ganzen Apparates samt Pflanze und dann dessen Gewichtsabnahme

durch Wägung bestimmt und so die Größe der Transpiration gefunden, während gleichzeitig das Flüssigkeitsniveau im kommunizierenden Meßrohr die aufgenommene Wassermenge anzeigt. Zu berücksichtigen ist dabei das von den Wurzeln verdrängte Wasservolumen, welches in verschiedenen Niveauhöhen ungleich ist.

MacDougals[1] „Potometer" (Fig. 159) besteht aus einem etwa meterlangen, engvolumigen Glasrohr, dessen Teilstrichabstände 100 mg Wasser entsprechen. Das eine Rohrende ist rechtwinklig nach abwärts gebogen *a* und taucht in ein kleines Gefäß mit Wasser, das andere Ende ist u-förmig nach aufwärts gebogen und dient zur Befestigung der Versuchspflanze. Nachdem der Apparat mit Wasser gefüllt wurde, läßt man durch Heben des Schenkels *a* eine Luftblase eintreten und notiert die Zeitintervalle, die verlaufen, wenn diese Luftblase von einem Teilstrich zum andern vorrückt. Verwendet man gefärbtes Wasser, so ist die durch das Vorrücken der Luftblase angezeigte Aufnahme des Wassers durch den Sproß einem größeren Auditorium sichtbar zu machen, die Transpirationsgröße wird allerdings dadurch nicht angegeben.

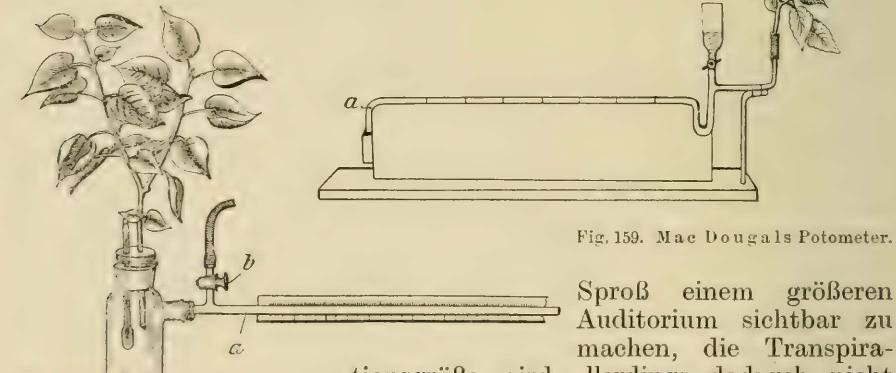


Fig. 159. Mac Dougals Potometer.

Fig. 160. Pfeffers Apparat für feinere Transpirationsmessungen.

Pfeffer[2]) hat für feinere Transpirationsmessungen, als sie mit seinem oben beschriebenen einfachen Apparat möglich sind, ein Instrument konstruiert, bei dem ein ganz ähnliches Versuchsgefäß verwendet wird wie bei jenem, nur daß hier der Tubus oben statt unten angebracht ist. Der Stöpsel, welcher das Gefäß (Fig. 160) verschließt, trägt in der einen Bohrung den zum Versuche verwendeten Sproß, in der anderen ein Thermometer, das ebenfalls in das Wasser eintaucht. Das englumige, in dem Tubus befindliche Rohr *a* trägt einen Maßstab und liegt horizontal, wodurch eine Veränderung des Wasserdruckes vermieden wird. Ein Wiederfüllen des Rohres ist durch den Hahn *b* möglich, welcher die Verbindung mit einem höher gestellten Gefäße herstellt. Mittels dieses Apparates ist die Ablesung innerhalb sehr geringer Zeitintervalle und die Beobachtung der Aufnahme von sehr geringen Wassermengen möglich.

[1]) Mac Dougal, Botan. Gaz. 24, 110 (1897)
[2]) W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie I, S. 223.

Zur Bestimmung der Transpiration hat V e s q u e [1]) einen Apparat beschrieben (Fig. 161). Ein Kapillarrohr aus Kristallglas a ist an seinen beiden Enden rechtwinklig nach abwärts gebogen; das wieder nach aufwärts gekrümmte Ende reicht einerseits von unten in den mit Wasser gefüllten Zylinder b, der oben in der üblichen Weise mit dem Stöpsel verschlossen ist, in den die Versuchspflanze luftdicht eingepaßt wurde. Das andere nach aufwärts gebogene Ende ist mit folgendem Apparat verbunden: Der kleine Zylinder e ist an seinem unteren Ende mit einem doppelt gebohrten Stöpsel verschlossen, in dessen eine Öffnung eben das gebogene Ende des Rohres a eingeführt ist, in die andere Bohrung reicht der Schenkel des Zylinders d, der nach unten verschmälert ist und eben in jener gebogenen Röhre ausläuft; e und d sind mit Wasser gefüllt, in der Mitte von d ist eine nach aufwärts gerichtete Nadel c befestigt, deren Spitze zu Beginn des Versuches den Flüssigkeitsspiegel berührt. Das Kapillarrohr geht durch die Fassung f, mit der ein auf dem Balken g aufliegendes Prisma befestigt ist. Das ganze Instrument funktioniert wie eine Wage, und so wie bei einer solchen läßt sich mittels der Schraube s der Schwerpunkt nach oben oder nach unten verschieben. Die Pflanze entnimmt ihr Wasser aus dem Zylinder e, während das Gefäß b ständig mit Wasser gefüllt bleibt. Angenommen, zu Beginn des Experimentes sei das Instrument im Gleichgewicht, die Nadelspitze sei auf Null eingestellt und das Gewicht jedes der Wagebalken sei mit P bezeichnet. Ist p der Betrag des durch die Wurzel aufgenommenen, p_1 der des durch die Pflanze in der Transpiration abgegebenen Wassers, so ist das Gewicht des Wagebalkens auf der Seite des mit der Pflanze versehenen Zylinders b

Fig. 161. Vesques Transpirometer.

$$P + p - p_1.$$

Das Gewicht des anderen Wagebalkens

$$P - p.$$

Um das Gleichgewicht wieder herzustellen, muß auf dieser Seite Gewicht zugelegt werden, uns zwar

$$(P + p - p_1) - (P - p) = 2p - p_1 = x.$$

Diese Zahl wird in der Regel positiv sein, d. h. das Gefäß b wird gesunken sein; im Falle sich c gesenkt haben sollte, wäre $p_1 > 2\,p$, d. h. die Pflanze hätte mehr als das doppelte des aufgenommenen Wassers abgegeben. Wenn die Pflanze gerade doppelt so viel Wasser abgibt, wie sie aufnimmt, bleibt die Wage im Gleichgewicht. Sobald der Versuch beginnt, sehen wir das Niveau des Wassers fallen und die Nadel aus d emportauchen.

Angenommen es wäre $p > p_1$, d. h. die aufgenommene Wassermenge sei größer als die abgegebene. Aus einem tarierten Fläschchen

[1]) J. V e s q u e, Annal. sc. de nat. Bot. 6, 201 (1878).

wird in das Gefäß e so viel Wasser gegossen, bis das Nullniveau in d wiederhergestellt ist. Die Gewichtsdifferenz des Fläschchens entspricht dem Gewichte des aufgenommenen Wassers p; das Gleichgewicht ist aber noch nicht hergestellt, man muß noch, um das zu erreichen, eine kleine Menge Wasser, entsprechend $p - p_1$, hineinschütten, welche mit der erstzugefügten zusammen die Menge x ergibt. Wir kennen $x = p + (p - p_1)$. Kennen wir nun p und x, so ist die in der Transpiration abgegebene Wassermenge aus der Gleichung

$$p_1 = 2p - x$$

zu bestimmen. Der Apparat eignet sich vor allem zu Demonstrationszwecken. An einem trockenen Ort auf den Boden gestellt, sinkt der Arm mit c. Unter gewöhnlichen Vegetationsbedingungen, in feuchter Luft und diffusem Licht, bemerkt man, daß gleichzeitig mit der Einstellung von Niveau d man das Gleichgewicht p herstellt. Es geschieht häufig, daß man mit einemmal nicht fertig wird, sondern eine neue Menge Wasser zufügen muß, um die Nadel wieder auf Null einspielen zu lassen.

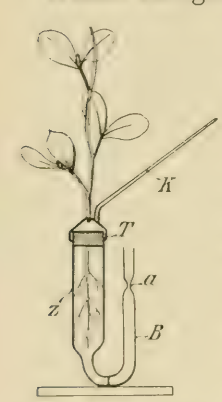


Fig. 162. Apparat von Vesque.

Ein einfacherer von Vesque konstruierter Apparat (Fig. 162) besteht aus folgendem: Ein Glaszylinder z ist mit einem Stöpsel verschlossen, in dem der Pflanzensproß luftdicht T befestigt ist; unten kommuniziert dieser Zylinder mit einem engeren Zylinder B, der so gekrümmt ist, daß er einen langen, vertikalen Schenkel bildet. An der Stelle a desselben ist der Zylinder eingeschnürt. In den Stöpsel des ersten Zylinders ragt das gebogene und ausgezogene Kapillarrohr K, durch das dieser mit der äußeren Luft in Verbindung steht. Der ganze kleine Apparat, der ungefähr 7—8 cm Höhe mißt, ist auf einem kleinen Holzbrettchen fixiert. Um den Apparat mit Wasser zu füllen, verbindet man B durch einen Kautschukschlauch mit dem unteren Tubus eines mit Wasser gefüllten, erhöht aufgestellten Gefäßes; die Luft entweicht durch die Kapillare K; durch zweckmäßiges Neigen des Apparates kann man leicht die letzten Luftblasen entfernen, die an den Glaswänden oder an den Wurzeln haften. Wenn das Rohr C mit Wasser gefüllt ist, verschließt man es mit dem Finger, zieht den Kautschukschlauch von B ab, verschließt auch B mit dem Finger, und schmilzt an der Lampe das Ende des Rohres K ab. Indem die Pflanzenwurzeln beständig Wasser aufnehmen, sinkt das Wasserniveau in B und man kann leicht die Menge des verschwundenen Wassers messen; die Menge des durch Transpiration abgegebenen Wassers zeigt die Gewichtsabnahme des Apparates an. Im Experiment entfernt man mit Filtrierpapier das Wasser jenseits der Einschnürung von B, wägt dann den Apparat möglichst schnell, vermerkt sich die Zeit und überläßt ihn dann sich selbst. Die Versuchsdauer muß möglichst lang sein, damit die kurze Zeit zwischen der Einstellung bei a und der Wägung vernachlässigt werden kann. Bei Beendigung des Versuches wägt man von neuem und betrachtet den Gewichtsverlust als Transpirationsgröße. Dann schüttet man aus einem Fläschchen, nachdem dieses zur Hälfte mit Wasser gefüllt und gewogen wurde, Wasser in die Röhre B, bis wieder das Niveau von a erreicht ist, und wägt das Fläschchen wieder, dessen Gewichtsverlust das aufgenommene Wasser angibt. Es ist übrigens nicht notwendig, das Fläsch-

chen zu wägen, es genügt, die Pflanze am Schlusse des Experimentes zu wägen, in die Röhre *B* aus dem Fläschchen Wasser einzugießen, bis das Niveau *a* erreicht ist, und dann wieder zu wägen: die Gewichtsdifferenz ergibt die aufgenommene Wassermenge. Wenn man gleichzeitig auch das Fläschchen wägt, besitzt man eine wünschenswerte Kontrolle, welche es ermöglicht, Versuche auszuschalten, in die sich ein Fehler infolge der Zeit eingeschlichen hat, die zwischen den einzelnen Operationen verstreicht.

Höchst einfach ist auch der von Krutitzky erfundene Apparat (Fig. 163), mit dem Transpiration und Wasseraufnahme gleichzeitig bestimmt werden können. Auf die Schale einer Federwage *W* wird ein Glasgefäß gestellt, in das die in Erde eingewurzelte Versuchspflanze *P* gestellt wird.

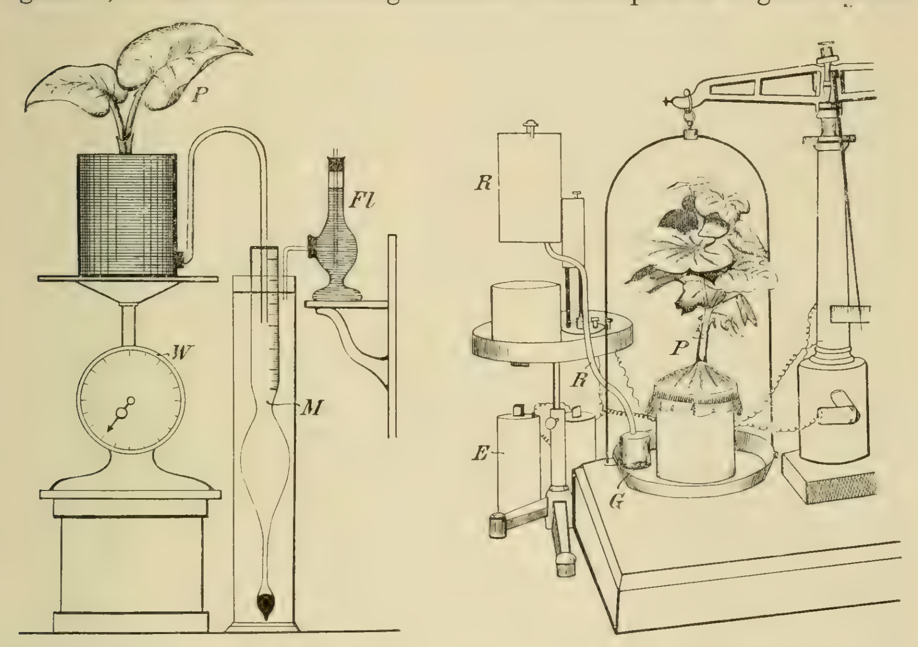


Fig. 163. Krutitzkys Transpirationswage. Fig. 164. Selbstregistrierendes Transpirometer von Ganong.

Der Topf besitzt nahe der Basis einen Tubus, in den ein doppelt gebogenes Siphonrohr abzweigt, das in einen aräometerähnlichen Schwimmer *M* taucht, der in einem nahe der Wage stehenden, mit Wasser gefüllten Glaszylinder stabil schwimmt. Seitlich von diesem Apparat steht auf einem Stativ ein Mariottesches Gefäß *Fl*, welches dazu dient, das Wasserniveau im Zylinder konstant zu erhalten. Die freie Oberfläche im Schwimmer kann mit einer Ölschicht bedeckt sein. Saugt die Pflanze durch den Siphon Wasser aus dem Schwimmer, so hebt sich dieser und zeigt, da er in Kubikzentimeter eingeteilt ist, die Menge des aufgenommenen Wassers. Anderseits gibt der Zeiger auf dem Zifferblatt der Wage das jeweilige Mehr- oder Mindergewicht des Topfes samt Pflanze in Grammen an. Der Apparat kann auch selbstregistrierend eingerichtet werden. Zu diesem Zweck befindet sich auf dem Schwimmer nahe seiner Mündung ein Korkring, auf dem eine Glasnadel mit einem Gegengewichte befestigt ist; diese berührt wieder die berußte Oberfläche einer Trommel, welche,

um eine vertikale Achse drehbar, in 24 Stunden eine Umdrehung macht. — Gehen wir nun zu den sehr genauen, aber auch entsprechend komplizierteren Transpirometern über, so seien hier nur die von Ganong, den Transeau[1]) vereinfacht hat, von Anderson, Woods und Vesque genannt.

Das selbstregistrierende Transpirometer von Ganong (Fig. 164) besteht aus einem Zylinder R, der auf einem Spiralgeleise zwischen Außen- und Innenwand ca. 250 Kugelgewichte von 1 g trägt. Diese Gewichte sind Kugeln aus Stahl von 1 1/2 Zoll (englisch) Durchmesser, wie wir sie auch bei der Andersonschen Wage kennen lernen werden, welche untereinander nicht mehr als zirka 1 mg an Gewicht variieren. Diese versorgen durch ihre Schwere einzeln eine einfache Fallklappe, welche so angebracht ist, daß, wenn durch einen Elektromagneten ein Antrieb ausgeübt wird, eine gleitende Bewegung entsteht, die einen Ball durch eine Röhre in eine Wagschale G fallen läßt, worauf sofort ein neuer Ball dessen Platz auf der Gleitfläche einnimmt. An dieser Fallseite ist ein Stab angebracht, an dem eine Schreibfeder so adjustiert ist, daß sie die Gleitbewegung in Tätigkeit setzt, d. h. immer wenn eine Kugel fällt, zeichnet die Feder mit Chronographentinte eine feine, vertikale Linie auf dem Registrierpapier, das durch einen rotierenden Zylinder langsam vorbeigeführt wird. Die Pflanze P wird in der für Transpirationsversuche üblichen Weise befestigt und befindet sich im Gleichgewicht auf der Wagschale irgend einer guten analytischen Wage, während das Transpirometer daneben adjustiert ist. Wenn die Pflanze bei der Transpiration Wasser abgibt, erhebt sich diese Wagschale und berührt auf der Höhe ihrer Schwingung einen Draht, wodurch ein elektrischer Strom geschlossen wird. Dieser setzt einen Elektromagneten E in Tätigkeit, welcher dann das Gleiten der Bälle bewirkt und eine Kugel in die Wagschale fallen läßt; diese wird dadurch sofort herabgedrückt und der Strom mithin unterbrochen. Dadurch entsteht ein Zeichen auf dem Registrierpapier. Dieser Vorgang vollzieht sich dann jedesmal, wenn die Pflanze ein Gramm Wasser verloren hat. Die Registriertrommel dreht sich einmal in 24 Stunden um ihre Achse, und das Papier ist in numerierte Abschnitte rastriert, welche den Stunden entsprechen. Diese Räume sind wieder in zwölf Teile untergeteilt, von denen also jeder fünf Minuten entspricht. Jeder von ihnen ist 1 mm breit, so daß man also auch gewöhnliches Millimeterpapier verwenden kann. Diese wiederum können leicht abgelesen werden, so daß man durch Schätzung auch Zwischenräume von einer Minute bestimmen kann. Daher ist es möglich, von der Trommel direkt die Zahl der Minuten abzulesen, welche vergehen, während die Pflanze 1 g Wasser verliert, welche Zahlen leicht in andere Daten umgewandelt werden können. Nach horizontaler Richtung ist das Papier in sieben Räume geteilt, welche durch Anfangsbuchstaben bezeichnet werden, die je einem Tage der Woche entsprechen. Die Feder gleitet auf dem Stabe, welcher sieben Einkerbungen enthält; jeden Tag, wenn die Pflanze (alle 24 Stunden) begossen und das Uhrwerk aufgezogen wird, gleitet die Feder am Stabe entlang um eine Einkerbung tiefer. Jeder Streifen des Registrierpapiers reicht daher für eine Wochenarbeit. Der Dreifußständer des Apparates ist nach der Höhe verstellbar und kann entsprechend eingestellt werden, während des Gebrauches wird der Apparat von einer Glasglocke bedeckt

[1]) E. Transeau, Botan. Gaz. 52, 57 (1911).

arbeiten gelassen. Für den Gebrauch im Freien ist es besser, den Gewichtszylinder und die Registriertrommel getrennt aufzustellen, so daß man die letztere an beliebigem Orte, im Laboratorium, im Zimmer usw., plazieren kann, während das Meßinstrument beliebig entfernt davon arbeitet. Die Gewichte sind gewöhnlich Grammgewichte, aber es können natürlich auch leichtere oder schwerere Verwendung finden.

Die Andersonsche[1]) Registrierwage (Fig. 165) besteht im wesentlichen aus einer Wage, deren einer Wagarm *w* sinkt, wenn das Gewicht eines wasserabsorbierenden Chlorkalziumgefäßes *k* wächst. Wenn der Arm sinkt, wird ein elektrischer Strom geschlossen, und ein elektromagnetischer Mechanismus läßt ein Gewicht los, welches auf den anderen Arm *r* des Wagebalkens oder besser direkt in die Wagschale fällt. So wird die Schale automatisch ins Gleichgewicht gebracht, nachdem ein gleicher Zuwachs des Gewichtes sich eingestellt hat. Sowie das Gewicht fällt, wird es auf dem Registrierzylinder verzeichnet, der in jeder beliebigen Entfernung von der Wage

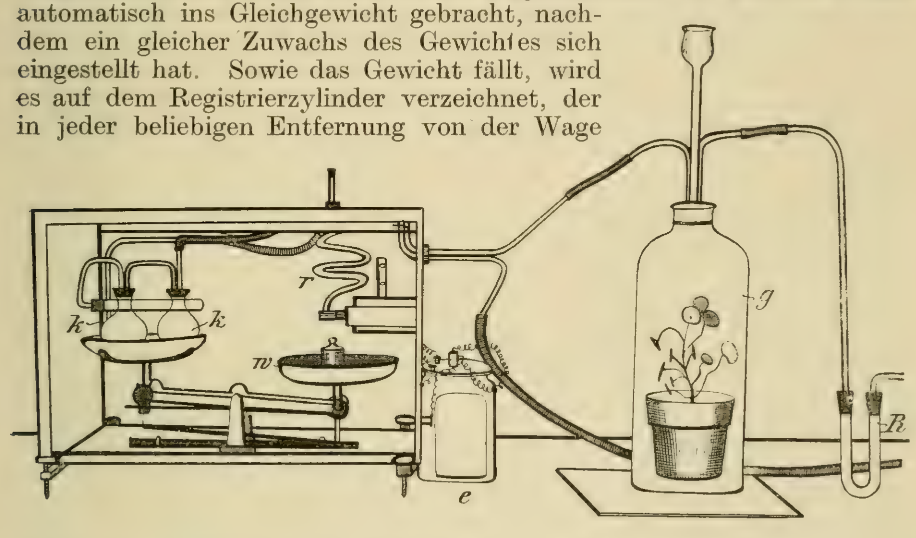


Fig. 165. Andersons Registrierwage.

aufgestellt sein kann. Die Wage mitsamt dem ganzen Fallmechanismus ist in eine Kasette eingeschlossen, um vor Feuchtigkeit bewahrt zu sein. Die Wägevorrichtung besteht aus einer flachen Schale und ist auf $^1/_{50}$ g empfindlich mit einer Belastungsmöglichkeit von 5 kg. Der Balken ist 11 Zoll (englisch) und mit seinen Stützen an einer Eisenplatte angeschraubt, die am Boden der Kasette montiert ist. Die Messingschalen haben 7 Zoll Durchmesser und werden durch Messingträger gehalten, welche an den Armen des Wagebalkens angebracht sind; die Träger der Wage sind aus Diamantstahl. Der elektromagnetische Balancemechanismus besteht aus einem Gewichtehalter und einem Elektromagneten *e*, ferner aus Metallkontakten auf dem Wagebalken, dem Quecksilbergefäß, Draht und Batterien. Der Gewichtehalter *r* ist eine spiralig zusammengedrehte Messingröhre, welche 125 Stück Gewichte enthält. Am unteren Ende dieser Rolle ist ein Hebel, der an einem Zapfen vor- und rückwärts gedreht werden kann. Ein Ende dieses Hebels ist durch

[1]) Anderson, Minnesota botan. studies 1, 177 (1894).

einige Kettenglieder mit der Armatur des Elektromagneten verbunden und das andere Ende, welches durch eine Feder an seiner Stelle gehalten wird, wenn der Strom geöffnet ist, trägt eine Gewichtstasche, welche ein Gewicht von der Gewichtsröhre aufnimmt, wenn der Strom sich schließt, und läßt es, nachdem es zirka $^2/_{16}$ eines Zolls seitlich geschoben wurde, durch ein Loch in der Messingplatte fallen, von wo es in die Wagschale gleitet. Sowie der Strom durch Wiederherstellung des Balkens ins Gleichgewicht wieder geöffnet ist, kehrt der Hebel in seine frühere Stellung zurück und empfängt ein anderes Gewicht aus der Röhre und ist von neuem bereit, es in die Wagschale fallen zu lassen, sobald das notwendige Anwachsen des Gewichtes am andern Ende des Balkens den Strom schließt. Der Gewichtehalter ist etwa $^1/_{16}$ Zoll breiter als der Durchmesser der Gewichte, er ist an den Elektromagneten angeschraubt und erstreckt sich oberhalb und seitlich der Kasette, in welche er luft- und wasserdicht durch einen Kautschukstöpsel eingepaßt ist. Er kann also gegen einen solchen größeren oder kleineren Kalibers eingetauscht werden, je nach der Größe der verwendeten Gewichte. Gewöhnlich werden Gewichte zu 1 g verwendet, Stahlballen, die im Gewichte um nicht mehr als 1 mg voneinander differieren dürfen. Ein gutes Kohle-Zinkelement genügt, um den Mechanismus in Tätigkeit zu setzen. Der Strom geht von der Batterie zu einem Quecksilbergefäß durch den Magneten, dann durch den Kontakt am Wagebalken zu der Verbindungsstelle an der Kasette und von da zur Batterie zurück. Ein mit einem Schwefelsäureabsorptionsgefäß verbundenes $CaCl_2$-Rohr wird auf die eine Wagschale gestellt. Die vorher in R getrocknete Luft, welche die Transpirationsfeuchtigkeit aus der Versuchsglocke g mit der Pflanze fortführt, wird durch die Absorptionsgefäße mit Hilfe eines Aspirators durchgeführt. Zwei Kautschukschläuche verbinden den Absorber mit der Glocke und den Aspirator vermittels durchgesteckter Glasröhren. Die Kautschukschläuche befinden sich im Innern der Kasette und können von außen nicht angegriffen werden, bewegen sich mit der Wagschale und den Absorptionsgefäßen. Beim Beginn des Versuches werden beim Tarieren der Wage diese Kautschukschläuche zum Teil mitgewogen und bilden einen Teil vom Gewichte des Absorptionsgefäßes, was aber im Vergleich, da ihr Gewicht konstant bleibt, keine Fehlerquelle bedeutet.

Der Registrierapparat (Fig. 166) von J. Vesque[1]) beruht auf folgendem Prinzip: Auf der einen Schale einer sehr empfindlichen Wage steht ein kleines Glas b mit Wasser, das von einer Ölschicht bedeckt ist. Eine in einem festen Zylinder befestigte Pflanze nimmt daraus ihr Wasser mittels einer zweimal gebogenen Kapillarröhre. Dadurch wird das Gewicht der Schale geringer und die Wagschale c sinkt. Ein kleiner Platinkontakt, der unterhalb dieser Wagschale befestigt ist, berührt das in einem kleinen Eisennapf befindliche Quecksilber und schließt einen elektrischen Strom, der durch den Elektromagneten x streicht. Der Kern f wird angezogen und gibt die Schwingung der Achse von Hahn s frei, welche durch ein Uhrwerk bewirkt wird. Dieser Hahn ist ungebohrt und trägt an zwei entgegengesetzten Enden zwei gleiche konische Ausnehmungen. Das kleine Gefäß t ist mit Quecksilber gefüllt und ergießt nach jeder halben Umdrehung des Hahnes stets eine genau gleiche, kleine Quantität,

[1]) J. Vesque, l. c.

0,09 g Quecksilber in das Glas *a*. Gleichzeitig mit Beendigung dieser etwa halben Umdrehung senkt sich der Stift *p* und sticht eine Punktmarke auf die rotierende Trommel *V*. Die Wage ist auf einem Holzblock befestigt, eine ihrer Schalen trägt zwei kleine Gläser, von denen das eine, *a*, die Quecksilbertröpfchen enthält, die herausfallen sollen, das andere, *b*, das Wasser, welches zur Aufnahme durch die Pflanze bestimmt ist. Das Wasser ist von einer Ölschicht bedeckt, um die physikalische Wasserverdunstung auszuschließen. Die Wagschale *c* trägt mitten an ihrer Unterseite die kleine Platinöse, die in den Quecksilbernapf eintaucht, wenn der Wagebalken eine bestimmte Neigung erreicht hat. Eines der Elektroelemente ist am Kontakt *d* befestigt, der an der Unterseite des Blockes mit der Wagesäule *C* kommuniziert; von hier geht der Strom durch die Aufhängeschneide in die Schale *c*. Wenn die Platinöse eintaucht, gelangt er durch *e* in den Elektromagneten *x* und

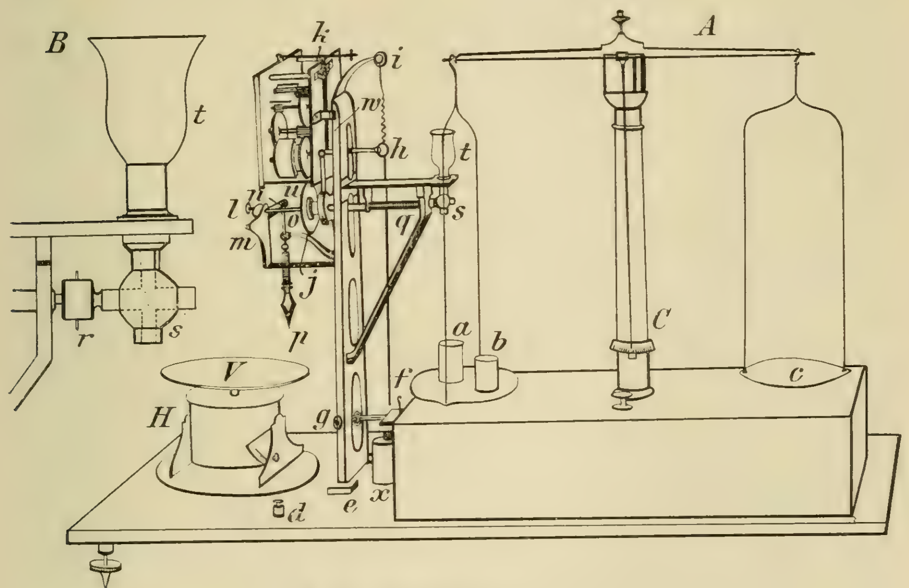


Fig. 166. Registrierapparat von Vesque

kehrt ins Element zurück. Die Achse des Hahnes *s* ist mit Hilfe eines Stiftes *r* (in Fig. *B*) an der Welle *lq* befestigt, von drei Stützen unterhalten und trägt ein gezahntes Rad *u*, das durch die Bewegung des Uhrwerkes gedreht wird, und ein Rad *j*, das an zwei entgegengesetzten Punkten eingekerbt ist. Die Uhrfeder *q* sucht die Welle beständig in den Hahn einzuführen. Der vertikale Schenkel des gebogenen Hebels *hj*, der um die Achse *w* sich dreht, ist durch eine kleine Rolle begrenzt, die an der Peripherie des Rades *j* läuft, bis einer der Einschnitte sich darbietet; dann senkt sich infolge des Zuges, den die Feder *ih* am anderen Ende ausübt, der Hebel; eine kleine vertikale Stange, die am Knie des Hebels angebracht ist, senkt sich gleichzeitig und läßt den kleinen Sperrhaken fallen, der das Uhrwerk zum Stehen bringt. Wenn der elektrische Strom den Elektromagneten durchläuft, wird das Stück *f*, das um Punkt *g* beweglich ist, angezogen und zieht mittels des Seidenfadens *fh* den

Horizontalarm des Hebels mit; der Haken *k* wird emporgehoben, die Bewegung setzt ein und bewirkt eine halbe Umdrehung der Stange *ls*, bis sich dem Hebel von neuem eine Einkerbung des Rades *j* darbietet. Ein Quecksilbertröpfchen von 0,09 g wird dann in das Glas *a* geschüttet, die Schale *c* der Wage steigt in die Höhe und der Strom ist unterbrochen. Der Hahn muß besonders sorgfältig gearbeitet sein, wobei großes Gewicht auf die absolute Gleichmäßigkeit der beiden Ausnehmungen und auf die leichte gegenseitige Verdrängung von Luft und Quecksilber zu legen ist. Der Schenkel *l* der Hahnstange trägt einen Hebearm, der bei jeder halben Umdrehung auf den um *m* beweglichen Hebel *mn* aufdrückt. Der Hebel seinerseits bewirkt eine Senkung der Spitze *p*, die ein kleines Loch in die Scheibe *V* einsticht und dann wieder durch die Wirkung einer Feder an ihren Platz zurückkehrt.

Es seien hier die ausführlichen Beschreibungen von Vesque als Beispiel einer Versuchsanstellung gegeben, wenn man nicht mit dem selbstregistrierenden Apparat arbeitet:

1. Die Größe der Absorption wird durch Wägung bestimmt. Auf die eine Wagschale einer etwa auf 5 mg genauen Wage ohne Gehäuse wird ein etwa 6 cm hohes, mit Wasser gefülltes Gläschen gestellt. Die Pflanze, welche ihre Wurzeln in Wasserkultur entwickelt hat, ist an ein Thermometer angebunden, das ihr als Stütze dient und dessen Kugel beiläufig in der Mitte des Wurzelsystems steckt; die kleinen Würzelchen sind durch einen locker gebundenen Faden zu einem Zopf vereinigt. Eine Klemme hält Thermometer und Pflanze in aufrechter oder leicht geneigter Stellung, so daß die Wurzeln ganz im Wasser schwimmen, ohne am Boden oder an den Wänden des Gefäßes anzustoßen. Auf die Wasserfläche wird, um die Verdunstung zu hindern, eine dünne Ölschicht gegossen, die auch zarten, krautigen Stengeln kaum schadet; die Wurzeln bleiben so drei Wochen lang völlig gesund und erst nach dieser Zeit beginnen sie sich schwarz zu färben, die oberirdischen Organe waren aber noch vierzehn Tage nachher ganz intakt. Nachdem die Wage tariert ist, wird neben das Gefäß auf die Wagschale ein 20—30 mg schweres Gewicht aufgelegt. Die Pflanze nimmt Wasser auf, das Gleichgewicht wird wieder hergestellt und die Zeit notiert, die von Beginn des Versuches bis zu diesem Moment verläuft. Die Schwingungen der Wagezunge werden, um sie nicht zu beeinflussen, mit einer Lupe aus einiger Entfernung beobachtet. Diese Methode gibt bei gewöhnlichen Temperaturverhältnissen und genügend langen Beobachtungszeiten ausgezeichnete Resultate; aber die Einzelversuche dauern sehr lange; um die Temperatur des Wassers zu ändern, muß man die Luft des Arbeitsraumes anders temperieren, wobei sich aber wieder die Transpirationsverhältnisse ungleichmäßig ändern. Eine einfache Heizvorrichtung, welche am wenigsten Übelstände zeigt, besteht darin, daß neben die Wage ein zylindrisches Glas- oder Metallgefäß gestellt wird, welches ins Wasser taucht, ohne die Wand des Wassergefäßes zu berühren. In diesen Zylinder läßt man einen Strom warmen Wassers laufen, den man durch einen Hahn reguliert, wodurch man beliebige Temperaturänderungen herbeiführen kann. Freilich sind so Täuschungen infolge der Ausdehnung des Gefäßes und infolge der kleinen am Glas oder Metall haftenden Luftblasen nicht ausgeschlossen; so senkte sich die Wagschale, sobald das heiße Wasser in dem Glasgefäß zu rinnen begann, sofort und bei einer Temperatur

von 30—40 ° C war eine Zugabe von 0,15 g zur Wiederherstellung des Gleichgewichtes notwendig: Der Versuch darf also erst begonnen werden, wenn ein Temperaturgleichgewicht hergestellt ist.

2. Die Absorption wird gemessen. Das Wurzelsystem der Pflanze wird hermetisch in einem kleinen Glaszylinder befestigt (Fig. 167). *T* ist das erweiterte Ende eines Trichterrohres, welches zur Aufnahme der Pflanzenwurzeln dient. Der Stöpsel trägt außer der Pflanze ein in Zehntelgrade eingeteiltes Thermometer *t*, welches zur Anzeige der Temperatur des die Wurzeln umgebenden Wassers dient. Um die Wassermenge zu vermindern und die immer wenig Sicherheit gewährenden Stöpsel zu vermeiden, kann man folgende Versuchsanstellung verwenden: Die Röhre *b* (durch einen Glashahn verschließbar) dient zum Einfüllen von Wasser aus der Flasche *k* in den Zylinder *T*. Die Röhre *c*, deren innerer Durchmesser sehr klein ist, ist geeicht und soll die Schnelligkeit der Absorption messen. Der ganze Apparat befindet sich in einer umgekehrten Glocke *A* von einem Fassungsraum von 2—3 Litern, die mit Wasser gefüllt ist; der Hahn *a*, der den Tubus der Glocke schließt, ermöglicht den Ersatz von kaltem durch wärmeres Wasser. Um die Temperatur während der Versuchszeit konstant zu erhalten, dient folgendes Verfahren: Der Zylinder *T* ist als Kugel eines Thermometers zu betrachten, dessen Säule die Röhre *c* ist. Dieses wassererfüllte Thermometer ist in Zehntelgrade eingeteilt. Die Graduierung geschieht durch das im Stöpsel steckende Thermometer *t*. Es genügt, die Temperatur des Wassers unter Ablesung des Thermometers *t* zu erhöhen und gleichzeitig den Meniskus des Wassers in der Röhre *c* zu markieren. Dabei muß natürlich angenommen werden, daß der Ausdehnungskoeffizient von Pflanzenwurzeln und Wasser derselbe ist, was aber wohl kaum jemals der Fall ist; man kann das Thermometer auch kalibrieren, wenn die Pflanze schon in *T* eingeschlossen ist, aber dann muß der Temperaturwechsel sehr rasch vorgenommen werden, damit die Pflanze währenddes keine erhebliche Quantität Wasser aufnimmt, was zu erreichen immer schwierig ist, so daß der ersten Methode der Vorzug gebührt. Wenn der Apparat also kalibriert ist, wird 0,1 ° als Volumeinheit genommen und die Ausdehnungsgröße des Wassers in der Röhre *c* gemessen. Angenommen, die Anfangstemperatur sei 15 ° C. Ich will nun die Absorption während einer Temperaturerhöhung von 15 ° auf 20 ° C beobachten; während des Versuches macht z. B. der Meniskus den Weg von 30 Einheiten der Teilung. Die Ausdehnung an und für sich läßt ihn $5 \times 10 = 50$ Teilungseinheiten fortschreiten, die Absorption betrug also $50 - 30 = 20$ Einheiten. Diese Methode hat manche Nachteile, die Kalibrierung der Röhre, welche eine Fehlerquelle ist, die Ungleichheit der Ausdehnung

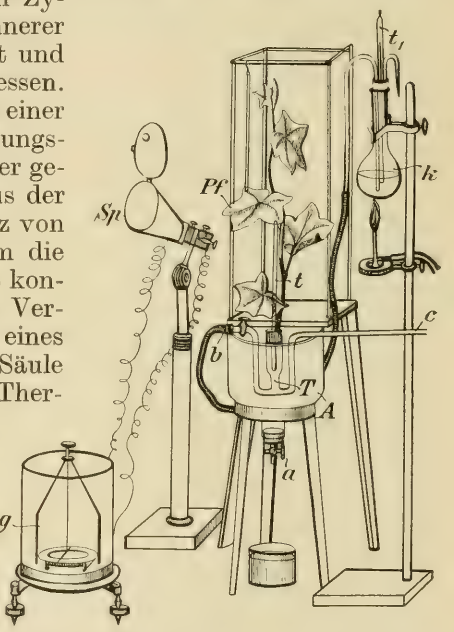


Fig. 167. Apparat zur Messung der Absorption nach Vesque.

von Wurzeln und Wasser, die fortwährende Änderung der Ausdehnung durch den Druck des eingeschlossenen Gases. Ein kleiner Kunstgriff gestattet vielleicht die peinliche Konstanterhaltung der Temperatur zu vermeiden. Angenommen, wir sollen die Absorption bei zirka 25° messen, während die Temperatur des Laboratoriums 15° beträgt. Man erwärmt das Wasser der Glocke *A*, indem man nach und nach warmes Wasser zufließen läßt. Wenn das Thermometer *t* 25° anzeigt, hört man auf, liest die Stellung des Meniskus in *c* ab und notiert die Zeit. Die Temperatur des Zylinders *T* erhöht sich noch ein wenig und das Thermometer zeigt z. B. nach einer bestimmten Zeit die Maximaltemperatur 27° C. Bis hierher kann die Bewegung des Meniskus keine präzise Ablesung ermöglichen, weil sie gleichzeitig von der Ausdehnung des Wassers und der Absorption bestimmt wird. Aber von diesem Zeitpunkte an sinkt die Temperatur und erreicht nach einiger Zeit 25° C. Jetzt liest man den Stand des Meniskus ab, bezeichnet die Zeit und hat so den Einfluß der Ausdehnung ausgeschaltet. Man erhält so die Absorption bei einer Temperatur zwischen 25° bis 27° C. Man muß sehr langsam arbeiten, um den Gasen der Pflanze zu ermöglichen, sich in den Luftwegen der Pflanze frei zu bewegen, ohne in den Wurzeln lokale Drucke auszuüben, welche die Absorption beeinflussen müßten.

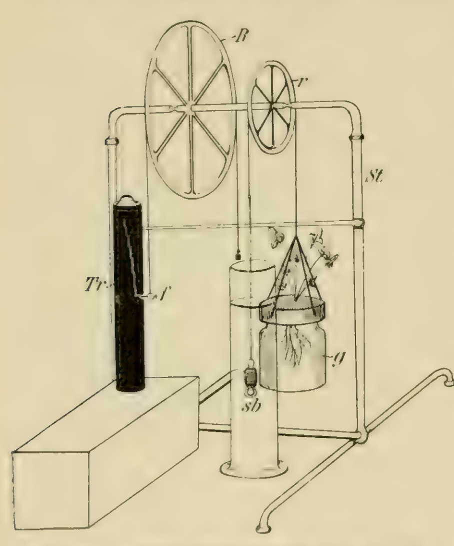


Fig. 168. Selbstregistrierender Apparat von Copeland.

Schließlich möge noch die Beschreibung des selbstregistrierenden Apparates von Copeland[1]) Platz finden, und zwar vor allem deshalb, weil im Gegensatz zu den vorstehenden selbstregistrierenden Instrumenten die Kosten dieses Apparates bei gleicher Leistungsfähigkeit bedeutend geringer sind als die jener; der ganze Apparat (Fig. 168) stellt sich auf beläufig 150 Mark. Das aus Eisenröhren *St* hergestellte Gestell ist 25 Zoll (englisch) hoch und 15 breit. Jeder Arm endigt an seinem oberen Teile mit einem stabförmigen Stück Spiegelglas, das mit seiner Oberseite genau horizontal liegen muß. Zwei Aluminiumräder von 6 und 12 Zoll Durchmesser, so ausgeschnitten, daß sie möglichst leicht und vollkommen zentriert sind, *R* und *r*, besitzen eine gemeinsame Achse, deren Enden schmale Zylinder vorstellen, welche auf den genannten Glasplatten rollen. Über das kleinere Rad läuft eine Seidenschnur, die einerseits die Versuchspflanze *g*, anderseits ein im untergetauchten Zustande im Gleichgewicht schwimmendes Aräometer *sb* trägt. Dieses besteht aus einem halb mit Quecksilber gefüllten Fläschchen mit einem gut schließenden Stöpsel, in den eine Glasröhre eingekittet ist. Die Seidenschnur ist mit gekochtem Wachs geglättet, so daß die Reibung möglichst verringert ist. Wenn die Pflanze beim Transpirieren Wasser abgibt, sinkt das Aräometer, indem es genau

[1]) Copeland, Botan. Gaz. 26, 343 (1898).

diejenige Wassermenge verdrängt, welche durch Transpiration am anderen Ende verlorengegangen war. Natürlich muß die Schnur, welche durch die Glasröhre des Aräometers läuft und dort befestigt ist, gegen hygroskopische Änderung ihrer Länge und sorgfältig gegen Berührung mit Wasser geschützt sein. Wenn beispielsweise der Querschnitt des Zylinders 1 qcm beträgt und das Aräometer 1 cm sinkt, so hat die Pflanze 1 ccm = 1 g Wasser verloren. Das größere Rad dreht sich und eine darüberlaufende gespannte Schnur, die mit einer Schreibfeder *f* in Verbindung steht, gestattet die Aufzeichnung der Drehung auf einem rotierenden berußten Zylinder *Tr* in der Art, wie das bei einem Auxanometer geschieht. Wenn der Apparat ordnungsgemäß behandelt wird, zeigt er nur einen Mangel, nämlich die Trägheit der Radlast. Die Achse dreht sich leichter, als dies auf Kugellagern möglich wäre.

Reibung ist praktisch keine vorhanden, das einzige, was der vollkommenen Leichtigkeit der Bewegung Eintrag tut, ist die Oberflächenspannung des Wassers; aber selbst ihr theoretisches Maximum ergäbe noch keinen sehr beträchtlichen Fehler und jedenfalls ändert sie sich kaum, wenn die Röhre sinkt, sobald diese nur gleichmäßig und rein ist; natürlich muß Zug und unregelmäßige Bewegung vermieden werden. Es können sowohl Topfpflanzen als auch Wasserkulturen verwendet werden; von der Enge der Glasröhren hängt die Empfindlichkeit des Apparates ab, eine dünne Röhre ist geeignet, wenn die Beobachtungsintervalle sehr kurz sind, sonst sinkt das Aräometer so rasch, daß es sehr bald den Boden erreicht. Wenn der Durchmesser zirka $^5/_8$ ccm beträgt, sinkt es 8 cm tief bei einem Wasserverlust von 5 g seitens der Pflanze. Wenn das Aräometer gesunken ist, steigt das Wasser ein wenig, aber das ist keine Fehlerquelle, weil das Wasser in demselben Gefäß war, als die Bewegungseinheiten beim Messen der Abstände auf dem berußten Zylinder bestimmt wurden. Bei den Messungen wird eine Genauigkeit von 0,1 mm erreicht. Es ist nicht zweckmäßig, das Rad höher zu belasten als mit 3,5 kg.

XXIII. Beobachtung des Transpirationsstromes.

Um in kleineren Pflanzen den Wasserstrom festzustellen, können wir erstens die Arbeit der Wurzeln in Betracht ziehen, also das, was man Wurzeldruck nennt, oder die Saugung durch den Sproß. Wenn wir auf dem Wurzelstumpf einer Pflanze, z. B. einer Fuchsie, einen Druckmessungsapparat befestigen, so wird das Wasser, welches aus dem Stumpf herausgepreßt wird, imstande sein, das Quecksilber des einen Manometerschenkels in die Höhe zu drücken; wenn man gleichzeitig an dem Sproß derselben Versuchspflanze ein Potometer anbringt, so kann man auch die Saugung durch den Sproß feststellen. Durch die gewaltsame Trennung von Sproß und Wurzel vollziehen sich aber Vorgänge, die ein Urteil von den Erscheinungen bei den getrennten Pflanzenteilen nicht mehr auf die bei der intakten sich vollziehenden Vorgänge übertragen lassen; es empfiehlt sich daher für solche Versuche einen von O. V. Darbishire[1]) beschriebenen und Pinometer genannten Apparat zu benutzen, welcher mit Pflanzen zu arbeiten gestattet, bei denen diese Lostrennung von Sproß und Wurzel nicht voll-

[1]) O. V. Darbishire, Botan. Gaz. 39, 356 (1905).

kommen erfolgt ist, sondern wo die beiden durch ein Verbindungsstück des Apparates in Konnex stehen, so daß, obwohl die Pflanze entzweigeschnitten ist, doch die Sproßsaugung mit dem Wurzeldruck und umgekehrt verbunden ist. Das Pinometer (Fig. 169) besteht aus einer geraden Glasröhre *b*—*d*, an welche ein anderes kurzes Glasrohr *c*—*f* schräg angeschmolzen ist. An der entgegengesetzten Seite, aber etwas höher, ist ein U-Rohr mit schiefem Verbindungsstück angeschmolzen (*a*—*e*). Der Apparat besitzt also hier vier Öffnungen, nämlich *a*, *b*, *c*, *d*. Die lichte Weite der für das Pinometer verwendeten Glasröhren hängt ausschließlich von der Sproßdicke der Versuchspflanze ab und wird ungefähr der Stammdicke entsprechend gewählt. Die Glasröhren müssen vor dem Versuch sorgfältig gereinigt sein, weil namentlich kleine Erdteilchen das Eindringen winziger Luftbläschen in das Röhrensystem ermöglichen. Auch die Kautschukschläuche sollen möglichst von Luft befreit und alle Manipulationen überhaupt so schnell als möglich ausgeführt werden. Wenn alle Teile des Apparates zusammengesetzt sind, wird die Pflanze mit ihrem Topf so in eine Untertasse mit Wasser gestellt, daß sie einige Zoll oberhalb des Punktes eintaucht, wo sie durchschnitten werden soll; die Blätter dürfen nicht mehr benetzt sein, als dies absolut notwendig ist. Der Pflanzenstengel wird nun so unter Wasser durchschnitten, daß oberhalb und unterhalb der Schnittstelle beiläufig ein Zoll des Stammes ohne Knospe oder Seitenzweig sich befindet. Wenn der Stamm schon einen vollkommenen Holzkörper besitzt, kann die Rinde einen halben Zoll oberhalb des Schnittes am Sproß und unterhalb an der Wurzel mit einem scharfen Messer entfernt werden. Das untere Ende des Sprosses wird nun, ohne aus dem Wasser gehoben zu werden, mit einem Kautschukschlauch an der Öffnung *a* befestigt und der Teil *a*—*e* des Pinometers bleibt mit Wasser gefüllt, selbst wenn es aus dem Wasser entfernt wird, und

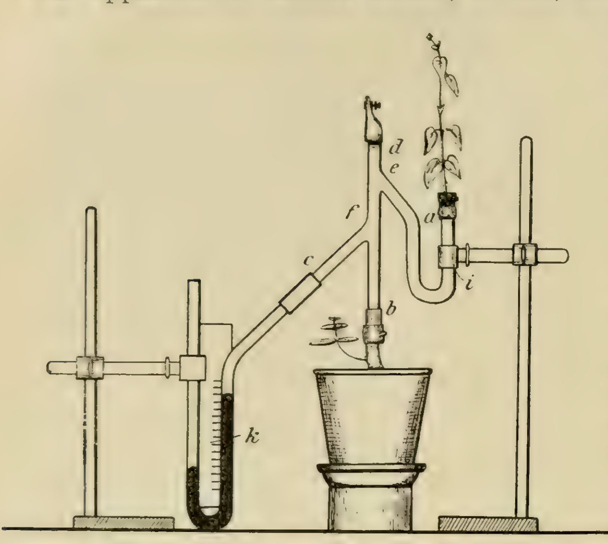


Fig. 169. Darbishires Pinometer.

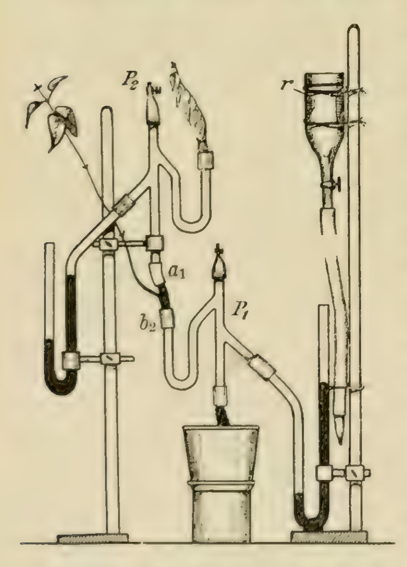


Fig. 170. Darbishires Anordnung mit zwei Pinometern.

kann zeitweise durch die Klemme *i* in einem Stativ gehalten werden. Die Pflanze wird am besten durch einen Druckschlauch und eine Schraubenklemme, nicht aber durch Umschnürung festgehalten. Dann wird ein Stück Kautschukschlauch über das obere Ende des Wurzelstumpfes geschoben, auch dieses mit Wasser gefüllt und nunmehr der ganze Blumentopf weggehoben. Das Ende *b* des Pinometers wird nun schnell mit diesem Schlauchende über dem Wurzelstumpf verbunden, an *c* wird ein Manometer *k* befestigt und Wasser vom Reservoir *r* in Fig. 170 nach *d* fließen gelassen, bis das ganze Röhrensystem mit Wasser gefüllt ist. Dann wird Quecksilber in den Außenschenkel des Manometers geschüttet und dadurch bewirkt, daß Wasser bei *d* zum Ausfließen kommt, wo ein Druckschlauch fest angebracht worden war. Wenn im Manometer genug Quecksilber vorhanden ist, so daß die Säulen entsprechenden Spielraum zum Steigen und Fallen haben, wird die Öffnung bei *d* durch einen Quetschhahn geschlossen, wodurch der Versuch eingeleitet ist; ein Millimetermaßstab *k* wird am Manometer befestigt.

Wenn Luft austritt, sammelt sie sich unter *d*, wenn sie aus irgendeinem Teil der Pflanze, den unteren Teil des Sprosses ausgenommen, kommt; sie kann durch Öffnen des Quetschhahnes und Einlaufen von Wasser aus dem Reservoir entfernt werden. Sollte sie sich aber unter *a* sammeln, so muß der Sproß aus dem Kautschuk herausgenommen und ins Glas getaucht werden, worauf man bei *d* vorsichtig Wasser ins Pinometer einfließen läßt; dieses fließt dann langsam bei *a* aus, worauf, nachdem das Wasser jede Spur Luft entfernt hat, der Sproß wieder befestigt wird. Das Öffnen des Quetschhahnes und die Verdrängung der Luft bewirkt wieder einen Rückgang des Quecksilbers zur Ausgangsstellung. Das kann aber vermieden werden, wenn man zwischen das schiefe Stück *f*—*c* und das Manometer einen Stöpsel einschaltet. Das ist übrigens nicht absolut nötig, weil der Apparat ohnehin kaum für quantitative Zwecke zu benutzen ist. Die Resultate, die mit dem Pinometer zu erlangen sind, hängen sehr von der Stelle ab, an welcher man die Pflanze befestigt; es sollen daher einige Experimente von Darbishire in dessen Beschreibung wiedergegeben werden: Ein Pinometer wurde am Hauptsproß durch Abschneiden des Stammes ein wenig oberhalb des untersten Seitensprosses befestigt. Kurze Zeit darauf stieg das Quecksilber in dem der Versuchspflanze zugekehrten Manometerschenkel, da diese aus dem Pinometer Wasser ansaugte. Sobald das Quecksilber steigt, wird der Zug am unteren Ende des Sprosses und oberen Ende des Wurzelstumpfes der Pflanze stärker, Hand in Hand damit die Blätter des Sprosses oberhalb welker, während die Blätter des untersten Seitensprosses ganz frisch bleiben. Hier zeigt sich also, durch das Pinometer angegeben, Saugung durch den Sproß, die auch automatisch registriert werden kann, wenn ein Schwimmer auf der Quecksilberoberfläche des offenen Manometerschenkels angebracht wird. Derselbe ist an einem feinen Faden befestigt, der über eine Rolle läuft und an dem freien Ende eines Hebels angreift, dessen anderes Ende eine Schreibfeder versorgt, die auf einer rotierenden Trommel schreibt. In einem anderen Versuch wurde das Pinometer an eine Fuchsie befestigt, und zwar zirka einen Zoll über der Erde und knapp unterhalb des untersten Seitenzweiges. Hier zeigte sich der Wurzeldruck sehr bald, und das Quecksilber wurde aus dem inneren Schenkel herausgedrückt und stieg schnell im anderen Manometerschenkel. Die Blätter des Sprosses

blieben so lange frisch, als der Druck andauerte, nämlich 16 Tage, an diesem Tage war der Höhenunterschied der beiden Manometerschenkel 20 mm. In einem dritten Versuch wurden zwei Pinometer (Fig. 170) verwendet. Eins war an einer Fuchsienpflanze gerade oberhalb der Erde befestigt, ein anderes gerade oberhalb des untersten Seitenzweiges. Die Pflanze war somit in drei Teile geschnitten, deren unterster, der Stumpf, jedes Seitenzweiges beraubt war. Das an dem unteren Pinometer P_1 befestigte Manometer zeigte sehr bald Wurzeldruck, das des oberen Pinometers P_2 Saugung von seiten der beiden Sproßteile an. Wurzeldruck und Sproßsaugung machte sich also hier durch die Höhendifferenz bemerkbar. Der Unterschied im Aussehen der Blätter an den beiden Sproßteilen war sehr auffallend. Die Blätter des oberen Sproßteiles waren tot, hier war ein starker Zug am unteren Ende vorhanden. Die Blätter des mittleren Sprosses waren frisch, da hier am unteren Ende ein Druck vorlag, obzwar das untere Pinometer von dem oberen nur durch zwei Zoll etwa getrennt ist (zwischen a_1 und b_2). Nach 14 Tagen zeigte eine neuerliche Ablesung eine Differenz von 18 mm in der Höhe der beiden Quecksilbersäulen im unteren Pinometer, was einen Druck von seiten der Wurzel anzeigte, und eine Differenz von 20 mm im oberen Pinometer, eine Saugung seitens des Sprosses anzeigend. Auch mit drei Pinometern wurde an einer Fuchsie ein Versuch ausgeführt. Nach einiger Zeit zeigte das untere Pinometer Wurzeldruck mit einer Differenz von 31 mm der Quecksilbersäulen, das mittlere zeigte Saugung mit einer Höhendifferenz von 85 mm und das obere Pinometer ebenfalls Saugung mit 63,5 mm Differenz. Die Zahlen waren am nächsten Tag in Millimetern: 39 (Zunahme um 8 mm) 127,2 (also 42,2) und 128 (d. i. 64,5). Die zwei unteren Pinometer befanden sich unterhalb der untersten Zweige. Das hier beschriebene Pinometer ist vor allem für Vorlesungs- und Demonstrationsversuche geeignet. Natürlich ist das Ansetzen des Pinometers an einen Fuchsiensproß für diesen keinesfalls gleichgültig, so daß immer der Einwand gemacht werden kann, die Vegetationsverhältnisse, unter denen der Versuch durchgeführt wird, seien unnatürliche. Jedenfalls ist es mittels des Pinometers möglich, die Beziehungen zwischen Wurzeldruck und Sproßsaugung deutlich zu machen.

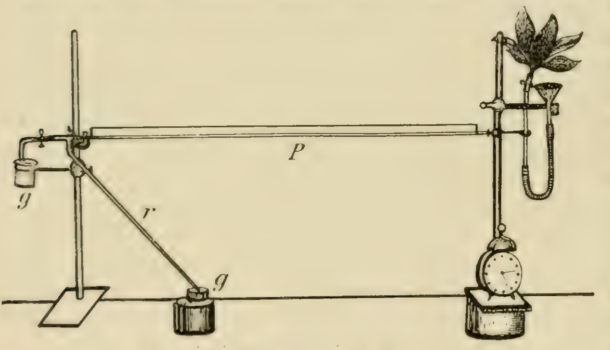


Fig. 171. Potometer von Renner.

Das von O. Renner zur Messung der Wasseraufnahme benutzte Potometer besteht aus einem ziemlich engen T-Stück (Fig. 171), in das der Versuchssproß durch enge, kurze Schlauchstücke luftdicht befestigt ist; diese müssen unter Umständen noch durch Bestreichen mit Pumpenfett besonders gedichtet werden. Hat man mehrere Schlauchsorten verschiedener Lumina, so lassen sich Kombinationen für die verschiedenste Dicke der Versuchsobjekte herstellen. Das Darüberschieben der Schlauch-

[1]) O. Renner, Flora 3 (n. F.), 173 (1911).

stücke über den Stammteil geschieht unter Wasser, nachdem unter Wasser die Schnittfläche erneuert wurde. Auch durch Abschälen der Rinde läßt sich das Objekt in den Schlauch einpassen. Der Sproß wird nun unter Druckanwendung an seinem Kautschukbesatz in das enge T-Rohr eingeschraubt. An den horizontalen Arm des T-Stückes, dessen enges Lumen Temperaturschwankungen weniger empfindlich fühlbar macht, ist eine zirka 1 m lange Kapillarröhre *P* angesetzt, deren zirka 1 qmm starke lichte Weite möglichst konstant im ganzen Verlaufe eingehalten sein soll. Am anderen Ende derselben ist ein Kautschukschlauch mit Quetschhahn angebracht, der in das Sauggefäß *g* taucht. Am unteren Ende des T-Stückes befindet sich ein Dreiweghahn, der mittels eines längeren Kautschukschlauches die Verbindung mit einem wassergefüllten Trichter herstellt, der sich in gleicher Höhe mit dem Versuchssproß befindet. Die seitliche Bohrung, welche den Hahn zum Dreiweghahn macht, und die gewöhnlich durch einen zugedrückten Schlauch geschlossen ist, gestattet Luft auszutreiben, wenn solche aus dem Trichter ins Potometer gelangt ist. Durch Ansaugen des T-Rohres wird die Kapillare vom Sauggefäße her mit destilliertem Wasser gefüllt, dann wird soviel Wasser wieder abgelassen, bis vom T-Stück her eine als Index dienende Luftblase in die Kapillare eintritt, worauf der Schlauch durch den Quetschhahn verschlossen wird. Jetzt läßt man vom Trichter aus mittels des Dreiweghahnes Wasser in die Kapillare eintreten, wodurch die Luftblase zwischen zwei Wassersäulen eingeschlossen ist und nun durch ihre Bewegung als Index dienen kann. Die Pflanze wird eingesetzt, der Schlauch zwischen Kapillare und Sauggefäß geöffnet und durch Manipulation mit dem Trichter die Luftblase an eine bestimmte, beliebige Stelle zurückgeschoben. Gibt die Pflanze Wasser ab, so wird die Luftblase vom T-Stück weggeschoben und läßt sich durch Senken des geöffneten Trichters unter das Niveau des Sauggefäßes oder durch Ansaugen des sonst abgeklemmten Schlauchstückes am Dreiweghahn wieder einstellen. Werden bei kräftiger Saugung längere Zeit keine Ablesungen gemacht, so wird der Schlauch der Kapillare abgeklemmt, der Trichter geöffnet und so der Index eingestellt. Zwischen Kapillare und deren Saugschlauch kann auch mittels eines Dreiweghahnes an einem abwärts gerichteten Arm *r* als Widerstand eine weite, Quecksilber gefüllte Röhre oder ein blattloses, in Wasser tauchendes Zweigstück in die Saugbahn eingeschaltet werden, so daß nicht aus dem normalen Sauggefäß, sondern aus der unter Quecksilber oder Zweigwiderstand stehenden Röhre das Wasser genommen wird. Zur gleichzeitigen Messung von Wasseraufnahme und Transpiration wird ein wägbares, aus T-Stück und langer Kapillare bestehendes Potometer ohne Sauggefäß verwendet und die Regulation der Indexluftblase durch einen in dem unteren Teil des T-Stückes verschiebbaren Glasstab besorgt. Die Weite des Kapillarlumens muß genau bekannt sein und

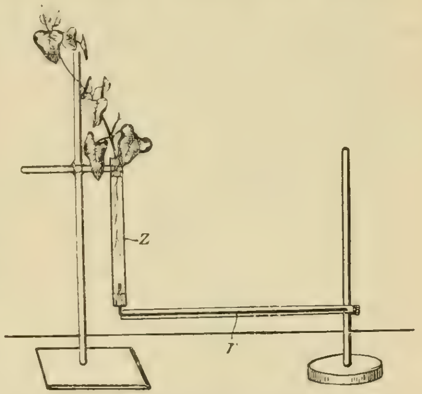


Fig. 172. Potometer mit bewurzelter Keimpflanze.

die Bestimmung geschieht durch Wägung einer Quecksilbermenge, deren Länge am Maßstab der Kapillare vorher gemessen wurde.

Wurde statt eines Zweiges eine bewurzelte Keimpflanze (Phaseolus multiflorus) verwendet (Fig. 172), so wurden die Pflanzen in großen Gefäßen mit Nährlösung zur Entwicklung gebracht, aber jedes einzelne Wurzelsystem entwickelte sich in einer 15—30 cm langen, 2 cm weiten zylindrischen, in dem gemeinsamen Gefäß durch einen durchbohrten Pappendeckel festgehaltenen Röhre, die dann folgendermaßen als Potometer benutzt wurde. Die Pflanzen wurden am Epikotyl in einen einfach durchbohrten, einseitig aufgeschnittenen Gummistöpsel gefaßt und dieser unter Druck in die Röhre gesteckt, die Bohrung eventuell noch weiter gedichtet. Die Röhre *Z* wurde dann umgekehrt mit Wasser oder Nährlösung gefüllt und dann ein zweiter Gummistöpsel mit Kapillare *r* und Maßabteilung eingesetzt. Das überschüssige Wasser wird dabei aus der Röhre in die Kapillare gedrückt, welche dadurch gefüllt wird. Will man die als Index dienende Luftsäule, die sich durch Saugung verschiebt, wieder zurücksetzen, so steckt man die Kapillare entsprechend tiefer ein.

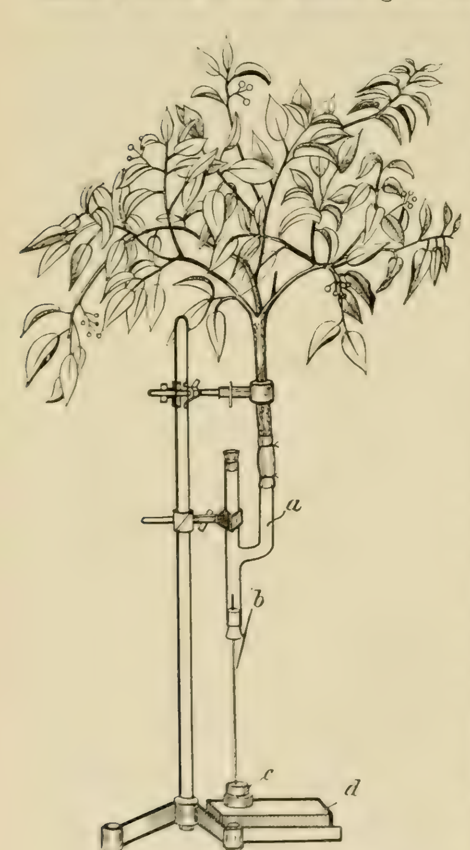


Fig. 173. Darwins Potometer.

Noch einfacher ist das von F. Darwin[1]) verwendete Potometer (Fig. 173): Es besteht aus einem T-Rohr, dessen Schenkel *a* so gebogen ist, daß er zu den beiden anderen Schenkeln parallel steht, und in dem ein abgeschnittener Pflanzensproß mittels eines Kautschukschlauches befestigt ist. Die beiden anderen Röhrenschenkel sind durch Kautschukstöpsel geschlossen, von denen einer von der Thermometerröhre *b* durchgezogen ist. Das T-Rohr und die Thermometerröhre werden mit Wasser gefüllt und der Apparat im Stativ so befestigt, daß das Ende von *b* in das kleine Gefäß *c* mit Wasser taucht, aus dem also alles vom Stamm gebrauchte Wasser kommen muß. Um eine Ablesung zu machen, braucht man nur die Holzunterlage *d* wegzuschieben und *c* zu entfernen: am Ende von *b* wird jetzt statt Wasser Luft eingesaugt, und wenn eine Luftsäule von einigen Millimetern in das Rohr *b* gelangt ist, wird *c* wieder an seinen Platz zurückgestellt. So ist nun eine Luftblase in *c* eingeschlossen, welche das Rohr aufwärts steigt und die Schnelligkeit der Wasserbewegung in *b* anzeigt, indem die zum Durchlaufen einer be-

[1]) F. Darwin und R. W. Phillips, Proceed. of the Cambridge Philosoph. Soz. 5, 331 (1885).

stimmten Strecke nötige Zeit abgestoppt wird. Indem man die reziproken Werte dieser Ablesungen nimmt, erhält man eine Reihe von Zahlen, die den vom Zweig in einer bestimmten Zeit absorbierten Wassermengen entsprechen. Wenn die Ablesung z. B. 10″ ist, deren reziproker Wert 0,1 ist, so ist die Absorption = 100, bei 5″ = 200, 20″ = 50 usw. Die wirklichen, diesen Zahlen entsprechenden Wassermengen variieren entsprechend dem Lumen der Röhre. Die Zahl 100 z. B. in Darwins Versuchen bedeutet eine Quantität Wasser zwischen 4 und 8 g pro Stunde. Bei jeder Ablesung tritt eine kleine Luftblase ins Potometer ein, und diese Luftblasen vereinigen sich unterhalb des oberen Stöpsels im T-Rohr und können durch fallweises Entfernen des oberen Stöpsels und Auffüllen mit Wasser entfernt werden. In seltenen Fällen gelangen auch Luftblasen unter den Zweig im Schenkel *a*, was freilich eine bedenkliche Fehlerquelle ist. Der Aufstieg der Luftblase in das Ende von *b* begegnet einigem Widerstande, infolgedessen tritt sie nicht ruhig, sondern mit einem Ruck ein und nicht erst, nachdem sie eine kleine Strecke in der Röhre zurückgelegt hat. Daher darf man die untere Meßmarke für die Wegstrecke der Luftblase nicht unmittelbar am Ende von *b*, sondern etwas weiter oben anbringen. Die ganze Strecke von *b* bis zum oberen Stöpsel ist zirka 10 cm lang, und das obere Ende ist gleichzeitig die obere Marke der Meßstrecke. Die als Index verwendeten Luftblasen sollen gleichgroß sein, abwechselnde Größen der Indices machen die Ablesungen ungenau, da längere Luftblasen schneller wandern. Der Verschluß des Apparates muß überall ein äußerst sorgfältiger sein. Der Apparat ist höchst einfach, schnell zusammengesetzt und abgenommen, jede Ablesung braucht nicht länger als einige Sekunden, so daß man in kurzer Zeit eine Reihe von Beobachtungen machen kann; die Pflanze wird schließlich nicht unnötig geschüttelt oder sonst unsanft behandelt. Beim Sinken des Wasserniveaus in *c* beim Aufnehmen von Wasser durch die Pflanze bleiben die Bedingungen wohl nicht ganz gleich, aber das spielt kaum eine Rolle, ebensowenig die kleinen Temperaturänderungen des Wassers. Die Prüfung des Apparates durch Ersatz der Pflanze mittels eines Saughebers, und durch Vergleichung der Ablesungen mit den gewogenen Wassermengen, die aus dem Heber geflossen waren, im Vergleich mit den von der Pflanze abgegebenen und schließlich mit den Ablesungen an einem Psychrometer ergaben seine gute Brauchbarkeit. Wenn ein abgeschnittener Zweig am Potometer befestigt wird, sind die Ablesungszahlen zunächst sehr hoch, sinken dann rapid und werden erst nach zirka einer Stunde annähernd konstant; diese Erscheinung muß sehr beachtet werden, weil arge Fehler resultieren können, wenn die Beobachtung früher einsetzt, wie folgende Zahlen der englischen Forscher beweisen: Prunus lusitanica, unter Wasser abgeschnitten und sofort am Potometer befestigt, zeigte bei aufeinanderfolgenden Ablesungen folgende Werte:

3h 37′ p. m.	263
3h 43′ „ „	208
3h 50′ „ „	167
3h 54′ „ „	159
4h 13′ „ „	118
5h 3′ „ „	87
5h 37′ „ „	76
5h 41′ „ „	80

Die Zahlen werden also erst ungefähr 1½ Stunden, nachdem der Zweig ans Potometer angesetzt worden ist, annähernd konstant.

XXIV. Das Bluten.

Die Ausscheidung von tropfbar flüssigem Wasser kann entweder schon an der unversehrten Pflanze oder erst an der verletzten beobachtet werden; letztere wird als Bluten oder Tränen bezeichnet. Bringt man am Wurzelstumpf (Fig. 174 *Pf*) ein gebogenes Glasrohr durch die Kautschukligatur *K* an, so kann man aus der Höhe der Wassersäule, die in dem Glasrohr emporgetrieben wird, die Menge, durch die Höhe der Quecksilbersäule, die durch das Blutungswasser emporgedrückt wird, die Kraft des Ausfließens bemessen. Dem Stengelstumpf *d* oder der Schnittfläche eines beblätterten Stengels einer in Erde oder Wasser gezogenen Pflanze (W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie I, S. 238) wird mittels Kautschuks, der gut mit Draht oder Bindfaden umwickelt sein muß, das Glasrohr *t* angepaßt, in welches mit Hilfe eines Kautschukstöpsels das in eine Kapillare ausgezogene Glasrohr *G* eingesetzt ist und die Kapillarspitze so abgeschmolzen, daß keine Luft im Apparate bleibt. Durch Herunterschieben von *G* kann man das Quecksilber im Manometer steigen lassen und so die Erreichung der endlichen Druckhöhe beschleunigen. Statt *G* kann man auch vorteilhaft einen Glashahn verwenden. Statt des Manometers kann man auch das abwärts gebogene (Fig. 175) Rohr *r* anbringen, das die Blutungsflüssigkeit in den Meßzylinder *z* führt, der durch den perforierten Kork *a* (nicht luftdicht) verschlossen wird. Mit Hilfe eines Gummistopfens kann man ein Manometer oder ein Ausflußrohr an das an einem Stamm angebrachte Bohrloch einsetzen, wofür die von Schwendener verwendeten pfriemförmigen Einsatzstücke mit seitlicher Bohrung geeignet sind. Baranetzky[1]) verwendet folgenden selbstregistrierenden Apparat (Fig. 176), der auf dem Prinzip des Schwimmers beruht, welcher mit dem steigenden Niveau der Flüssigkeit in einer Röhre gehoben und mit schreibendem Zeiger versehen ist. Die Röhre *a* ist eine 8—10 mm weite kalibrierte Bürettenröhre, *b* ein 12 mm weites ebenfalls kalibriertes Röhrchen, die beide durch das dreiarmige Röhrchen *r* miteinander verbunden sind, dessen freier Arm durch ein Stückchen mit Quetschhahn versehenen Kautschukschlauches überzogen ist. Die beiden Röhrchen *a* und *b* sind in zwei Querbalken *d* aus Kork, mit dem dieselben verbindenden Stock *c* parallel, gegeneinander unverschiebbar befestigt. Durch das Haltestück *h*, das am Stock *c* befestigt ist, kann die ganze Vorrichtung in vertikaler Lage fixiert werden, worauf durch Eingießen von Wasser aus einer Bürette in die Röhren die Länge der Wassersäule bestimmt wird, welche 1 ccm Wasser in den kommunizierenden Röhren einnimmt. Wenn die Röhren so weit sind, daß 1 ccm Wasser eine Säule von 25

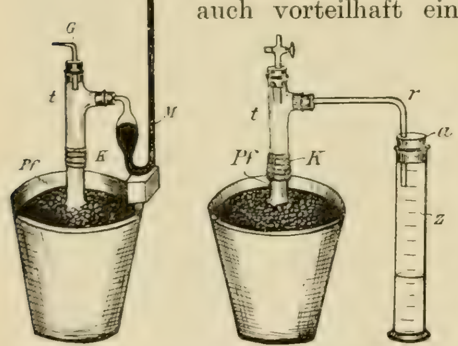


Fig. 174. Fig. 175.
Pfeffers Apparate zur Messung des Blutungsdruckes.

[1]) J. Baranetzky, Abhandl. d. naturf. Ges. zu Halle, **13**, 19 (1873).

bis 26 mm Länge bildet, wobei das Steigen des Niveaus um $^1/_4$ mm 0,01 ccm entspricht, so können Hundertstel eines Kubikzentimeters noch sicher beim Steigen des Schwimmers abgelesen werden. Faßt der Apparat 12 ccm Wasser, so reicht das für 12 Stunden vollkommen aus. Das Röhrchen *b* dient zur unmittelbaren Aufnahme des von der Pflanze ausgeschiedenen Wassers, in der damit kommunizierenden Röhre *a* bewegt sich der Schwimmer *s*; derselbe ist ein mit Quecksilber beschwerter Bürettenschwimmer aus Glas und bewegt sich im Rohre dicht, aber doch frei, er soll zirka 3 cm messen; oben ist er in eine Spitze ausgezogen, an der ein ganz gerade ausgezogener Glasfaden *m* von zirka $1^1/_2$—2 mm Dicke mittels Siegellack so befestigt ist, daß er mit der Achse des Schwimmers genau parallel läuft. Der Schwierigkeit, daß Röhrchen und Schwimmer nie ideal zylindrisch sind und die Kapillarität der Flüssigkeit um den Schwimmer herum diesen an die eine Röhrenwand andrückt, wodurch die freie Beweglichkeit verloren geht, wird man in der Weise Herr, daß man den Schwimmer bis zur Hälfte mit Quecksilber füllt und am Glasfaden eine über eine Rolle gehende Seidenschnur befestigt, die ein den Schwimmer äquilibrierendes Gewicht trägt, so schwer, daß der Schwimmer das Wasserniveau gerade nur mit seiner konischen Spitze überragt. Überdies wird an das obere Ende der Röhre *a* eine Blechkappe *n* angesetzt, welche in der Mitte eine kleine Öffnung für den Durchgang des Glasfadens besitzt, so daß seine seitliche Ablenkung verhindert wird. Diese Führung *n* befindet sich aber erst am Ende eines 10—12 cm langen Glasrohraufsatzes, der *a* verlängert, so daß auch beim Emportauchen des Schwimmers eine seitliche Ablenkung unmöglich wird. Die Rolle *k* hat zirka 3 cm im Durchmesser und ist ein leichtes, feingearbeitetes, sehr leicht bewegliches Messingrädchen. Wesentlich ist auch eine absolut vertikale Aufstellung der ganzen Apparatur. In das Röhrchen *b* wird das Abflußrohr *f* der Versuchspflanze mit seinem dünn ausgezogenen Ende eingeführt und an die Wand des Röhrchens angelegt, damit das Wasser nicht tropfenweise, sondern in kontinuierlichem Strom einfließe. Damit das Wasser nicht zusammenlaufe und durch seine, von Luft unterbrochene Ansammlung das Röhrchen verstopfe, muß es durch Alkoholäther von jeder Verunreinigung sorgfältig gesäubert sein. Das Röhrchen mit dem Quetschhahn gestattet fallweise ein Auslassen des Wassers zur Fortsetzung der Beobachtung, wenn *a* und *b* voll sind. Vor der Ansatzstelle der Seidenschnur ist der

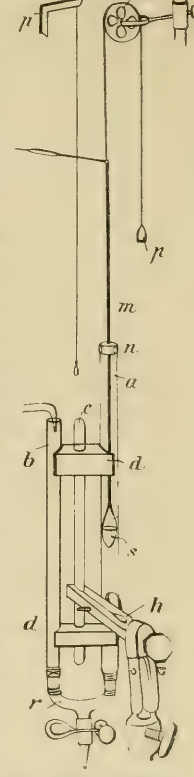


Fig. 176. Selbstregistrierender Apparat von Baranetzky.

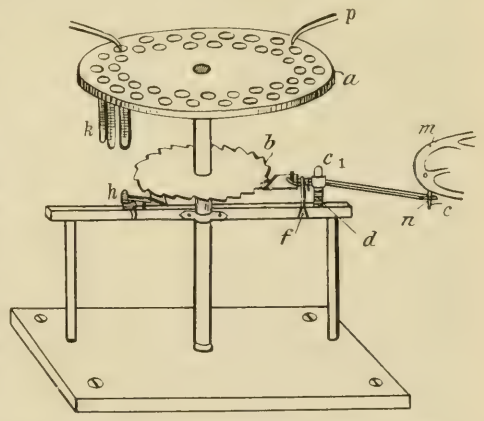


Fig. 177. Scheibenapparat nach Baranetzky.

Glasfaden rechtwinklig abgebogen und dient als Zeiger, welcher den Stand des Schwimmers auf dem Zylinder des Apparates aufzeichnet. Auf das Ende dieses Zeigers wird ein 4—5 cm langes Stück Grashalm aufgeschoben, der zugespitzt wird; es ist zweckmäßig, den ganzen Schreibhebel nicht länger als 10—12 cm anzufertigen, aber auch nicht wesentlich kürzer. Die Spitze des Zeigers wird der Oberfläche des berußten Zylinders seitlich in der Richtung der Zylinderbewegung angelegt. Damit aber bei der freien Bewegung von Schwimmer und Glasfaden um seine Achse die Spitze der Feder nicht vom Zylinder entfernt werde, hängt neben dem Zeiger an seiner, dem Zylinder abgewendeten Seite ein glatter Seidenfaden, der am unteren Ende durch ein, am Aufhänger *p* befestigtes kleines Gewicht geepannt ist, dieser beschwerte Faden wird mit seinem Ständer so nahe an den Zylinder angerückt und an den Zeiger angelehnt, daß er ihn nur leise andrückt, ohne sein Steigen zu behindern. Beim Beginn der Beobachtung wird der Stand des Zeigers durch einen Strich markiert und die Zeit notiert. Am Ende des Versuches zieht man eine vertikale Linie durch die Marke, um die Abstände der einzelnen Linien voneinander an dieser Vertikalen zu messen.

Ein anderer selbstregistrierender Apparat (Fig. 177) wurde von Baranetzky (l. c.) nach einem anderen Prinzip konstruiert. Die Holzscheibe *a* von 20 cm Durchmesser und 2 cm Dicke ist nahe dem Rande mit einer Anzahl in zwei konzentrischen Kreisen stehender Löcher versehen. Ein Lochkreis dient zur Beobachtung mit je einer Pflanze, so daß man soviele Lochkreise in der Scheibe haben muß, als gleichzeitig Versuchspflanzen beobachtet werden. Die Zahl der Löcher richtet sich nach der Anzahl der Stunden, für welche, ohne Eingreifen des Beobachters, der Apparat ausreichen soll. In die Löcher werden schmale, kalibrierte Eprouvetten *k* eingesenkt, die an ihrem verbreiterten Rande auf der Scheibe aufsitzen. Das Ende des Ausflußrohres jeder Pflanze befindet sich über der Mündung der Eprouvetten in einer Lochreihe. Die Scheibe macht in der Stunde eine ruckweise Drehung um den Abstand zweier Eprouvetten, so daß das Abflußrohr nach Ablauf einer Stunde über die nächste Eprouvette zu stehen kommt usf. Nach Ablauf einer Anzahl von Stunden sind alle verfügbaren Eprouvetten beschickt worden und braucht einfach den Stand der Flüssigkeit in jeder abzulesen. An der Achse der Scheibe befindet sich unterhalb ein Messingrad *b*, welches mit genau gleich geschnittenen Zähnen in der Zahl der vorhandenen Eprouvetten versehen ist. Neben dem Rade ist ein an seiner Achse horizontal beweglicher Haken *h* angebracht, welcher in den Zwischenraum zwischen zwei Zähnen hineinpaßt und durch eine schwache Feder angedrückt wird. Dadurch wird die Bewegung des Rades nur in einer Richtung ermöglicht. Der ungleicharmige Hebel c_1 *c* dient dazu, die Bewegung von Rad und Scheibe durch das Triebwerk zu vermitteln; er ist um seine vertikale Achse *d* drehbar, sein vorderer Teil c_1 ist außerdem mit dem übrigen Teil an einem Scharnier so verbunden, daß er sich in der Horizontalebene, aber nur rückwärts, ablenken läßt. An einem Rade des Triebwerkes *m*, welches eine Umdrehung pro Stunde macht, ist ein Stift *n* angebracht, der bei seiner Bewegung den langen Hebelarm *c* vor sich stößt; der kleinere Hebelarm c_1 biegt sich dabei rückwärts ab, um an dem Zahn vorbeizugehen; wenn er diesen verlassen hat, wird er aber durch die am Stifte *f* befestigte Feder mit dem langen Hebelarm *c* wieder in eine Linie gestellt; ist der Stift *n* an dem

Ende des Hebels vorübergegangen und läßt ihn wieder frei, so schnellt der Hebel, durch die Spiralfeder *d* gezogen, in seine frühere Lage zurück; das Ende c_1, welches jetzt den Zahn nicht mehr umgehen kann, schlägt an ihn und treibt ihn vor sich, bis der Hebel sich an den Stift *f* anlehnt und stehen bleibt. Der Haken *h* läßt bei dieser Bewegung einen Zahn vorbeigehen und wird durch seine Feder in den Zwischenraum zwischen die zwei folgenden Zähne eingedrückt, wodurch eine weitere Verschiebung des Rades *b* verhindert wird. In dieser Weise wird bei jeder Umdrehung des Rades *m* das Rad *b* um die Breite eines Zahnes und somit die Scheibe *a* um eine Eprouvette verschoben. Die Drehung der Scheibe kann auch elektromagnetisch durch eine Kontaktuhr bewirkt werden. Die Enden der Ausflußröhrchen *p* sind in dünne Spitzen ausgezogen und mit Fett beschmiert, so daß das ausfließende Wasser sich in kugelrunden Tropfen lange an der Ausflußspitze hält und beim Umdrehen der Scheibe nicht verloren geht. Das Röhrchen braucht nicht höher als 1 mm über dem Schiebeniveau zu stehen, so daß jeder Tropfen in die Eprouvette fällt und selbst, wenn während des Ausfließens eine Umdrehung der Scheibe erfolgt, am Rande der Eprouvette abgestreift wird. Die Verdunstung aus Tropfen und Eprouvette dürfen als sehr unbedeutend vernachlässigt werden. Zu den Versuchen werden am besten gehörig in Erde eingewurzelte, in geräumigen Töpfen längere Zeit gezogene Pflanzen verwendet. Der Stengel der Versuchspflanze wird nicht über 5 cm hoch über dem Boden abgeschnitten und das Ausflußrohr mittels eines T-förmigen Röhrchens angesetzt, wobei kurze Stümpfe durch den verbindenden Kautschukschlauch gegen Verdunstung geschützt sind, während längere zu diesem Zwecke noch mit Stanniol umwickelt werden müssen. Eine gleichmäßige Feuchtigkeit des Bodens während des Versuches ist schon deshalb notwendig, weil die Hauptmasse der Wurzeln sich an der inneren Fläche des Topfes befindet, wo die dünnen Wurzelfasern einen förmlichen Filzbelag bilden. Ein Begießen des Bodens während des Versuches würde den regelmäßigen Gang des Versuches stören, aber es genügt ein Verhindern der Verdunstung seitens der Oberfläche des Topfes, um die Feuchtigkeit des Bodens gleichmäßig zu erhalten. Man begieße den Boden so lange, bis er vollständig gesättigt ist und reichlich Wasser durchfließt; dann wird die Oberfläche des Topfes mit feuchtem Filtrierpapier und dann Boden und Wände sorgfältig mit Stanniol bedeckt, worauf der so gegen Verdunstung geschützte Topf in einen möglichst genau passenden Blechtopf eingehängt wird. Die Temperatur des Bodens soll mittels eines in hundertstel Grade geteilten Thermometers kontrolliert werden, dessen Kugel sich dicht am Rande des Topfes befindet, wo die Hauptmasse der tätigen Wurzeln sich ausbreitet.

Sehr häufig kommt es darauf an, den Blutungssaft so aufzufangen, daß er bis zur Untersuchung steril bleibt, was namentlich bei zuckerhaltigen Säften in feuchten, höher temperierten Räumen nicht leicht ist, da sich hier Gärungsvorgänge schon binnen wenigen Stunden zeigen können. Die folgende, von J. Gicklhorn, Wien, angegebene Methode (Fig. 178) ermöglicht das sterile Auffangen von Blutungssäften oder Guttationstropfen:

a ist ein gebogenes, in eine Kapillare ausgezogenes Rohr, das einerseits in ein auf beiden Seiten offenes zylindrisches Rohr *K* ragt. Dieses trägt zwei bakteriologisch geformte Wattepfropfen *w*, den einen als

Umhüllung der Einmündungsstelle des gebogenen Rohres, den zweiten, zum Verschluß der freien Öffnung des Zylinderrohres. An diesem Ende ist ein kurzer Kautschukschlauch über das Rohr geschoben. Das kapillare Ende des gebogenen Rohres ragt ziemlich tief in das Glasgefäß (etwa eine Eprouvette) *E* und auch hier ist die Einmündung durch den Wattepfropf verschlossen. Der ganze Apparat wird nun im Sterilisator in gewöhnlicher Weise sterilisiert, dann wird die Versuchspflanze dort, wo sie abgeschnitten werden soll, mit 1 °/₀₀iger Sublimatlösung abgewaschen, der Apparat mit der linken Hand bereit gehalten, während die rechte mit einem sterilisierten Messer den Schnitt durchführt. Der untere Wattebausch wird mit der Bunsenflamme abgebrannt, entfernt und der Pflanzenstumpf sofort durch den Kautschuk des Zylinderrohres, der über den Stumpf *f* gestülpt wird, mit dem Rohre verbunden, dann werden die Kautschukränder, die über die Schnittstelle ragen, mit venezianischem Terpentin verschmiert. So hat man einen luftdichten, vollkommen sterilen Abschluß geschaffen, die Wundstelle ist steril und der Blutungssaft gelangt in einen vollkommen sterilen Behälter, wo er beliebig lange belassen werden kann. Will man das Auffangegefäß wechseln, so kann das ebenfalls vollkommen steril geschehen, indem man eine neue sterilisierte Eprouvette nimmt, in deren Wattestöpsel vorher eine entsprechende Bohrung zum Durchführen des Kapillarrohres gemacht worden war. Durch Abflammen des Stöpsels, bzw. des Kapillarrohres kann diese Einführung in steriler Weise geschehen. Der einfache Apparat hat sich schon wiederholt beim praktischen Arbeiten bewährt.

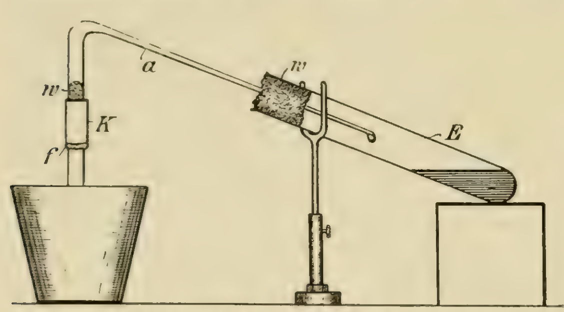


Fig. 178. Gicklhorns Anordnung zum sterilen Auffangen von Blutungssaft.

Wie groß der Unterschied der Transpirationsgrößen sein kann, je nachdem man bewurzelte Pflanzen oder abgetrennte Blätter verwendet, dafür ein Beispiel aus Burgersteins ausgezeichneter Monographie. Bei einer eingetopften Aucuba japonica (Topf sorgfältig verschlossen) fand Burgerstein die 24 stündige Transpiration in sechs aufeinanderfolgenden Tagen pro 100 qcm Blattspreitenoberfläche 482, 520, 524, 610, 585, 601 mg während gleichzeitig ein isoliertes, mit dem Stiel in Wasser tauchendes Aucubablatt pro 100 qcm an Gewicht verlor: 304, 215, 144, 65, 62, 51 mg., die Wasserabgabe pro 100 ccm war also beim isolierten Blatt bedeutend kleiner als an der ganzen Pflanze und verminderte sich überdies hier ansehnlich.

Daß die Wasseraufnahme und Wasserabgabe verschiedene physiologische Prozesse und durch Änderung der äußeren Verhältnisse in verschiedener Weise zu beeinflussen sind, so daß man nicht einfach eine konstante quantitative Proportionalität des einen mit dem anderen Vorgang annehmen kann, ergibt sich aus den von Kröber ermittelten Zahlen über Absorption und Emission von Wasser bei Tag und Nacht:

	Absorption	Transpiration	ccm
9^h 15′ a. m. bis 6^h 25′ p. m.	11,30	12,80	+ 1,5
6^h 25′ p. m. „ 9^h 50′ a. m.	8,05	6,48	— 1,57
9^h 50′ a. m. „ 7^h 05′ p. m.	11,30	11,80	+ 0,5
7^h 05′ p. m. „ 7^h 25′ a. m.	7,67	5,21	— 2,46

Das Verhältnis der Absorption bei Tag und Nacht ist 100 : 70, das der Transpiration 100 : 50; im Dunkeln ist also die Absorption im Verhältnis zur Transpiration größer als im Licht, man kann also die Verdunstungsgröße nicht durch das von der Pflanze aufgenommene Wasser messen. Wenn auch bisweilen das von der Pflanze in 24 Stunden abgegebene Wasser fast gleich ist dem in der gleichen Zeit aufgenommenen, so ist die Aufnahme und Abgabe doch während der einzelnen Tageszeiten sehr verschieden groß. Die Reduktion der gefundenen Transpirationswerte erfolgt entweder auf gleiche Oberfläche oder auf gleiches Gewicht der transpirierenden Teile und hier wieder auf gleiches Lebend- oder gleiches Trockengewicht. Vielfach ist die Reduktion auf die Fläche vorzuziehen, z. B. beim Vergleich von Sonnen- und Schattenblättern, weil erstere bei gleicher Fläche mitunter doppelt so viel wiegen als letztere. Bei Topfpflanzen von Hydrangea hortensis und Opuntia cylindrica, also Pflanzen, die in Bau- und Lebensweise sehr divergieren, fand Burgerstein das Gewicht der Hydrangeablätter (lebend) 12,310 g mit einer Oberfläche von 496 qcm, das Gewicht der Opuntiablätter 97,665 g mit 260,8 qcm Oberfläche. Der Transpirationsversuch ergab:

	Hydrangea	Opuntia
Absolute Transpirationsgröße	32,4 g	0,51 g
Transpiration pro 100 g Gewicht	263,2 „	0,52 „
„ „ 100 ccm Oberfläche	6,54 „	0,20 „

Die Transpiration der Hydrangea ist also bei Reduktion auf die Fläche 32,7 mal, bei Reduktion auf Lebendgewicht 506 fach größer als bei Opuntia. Das absolute Verhältnis der Transpirationsgröße zwischen Spreite und Stiel bei Roßkastanienblättern wurde zu 67 : 1, das Verhältnis derselben pro 100 g Lebendgewicht wie 135 : 1 und pro 100 qcm Oberfläche wie 1 : 1 gefunden.

Wiewohl die Blattunterseite infolge ihres größeren Reichtums an Spaltöffnungen stärker transpiriert, hängt doch die Menge des verdunsteten Wassers nicht allein von der Zahl der Stomata ab, es besteht also keine Proportionalität zwischen Transpirationsgröße und Spaltöffnungszahl. Bei vielen Pflanzen tritt nach 24 stündiger Verdunkelung Spaltenschluß ein oder die Spalten schließen sich nur teilweise; mitunter tritt diese Erscheinung (Avena) schon nach wenigstündiger Verdunkelung ein. Es bedarf auch keiner absoluten Verdunkelung, und deshalb können die Blätter einer und derselben Pflanze, je nachdem sie stark oder wenig vom Lichte getroffen werden, sich verschieden verhalten. Molisch fand diesbezüglich mit seiner Infiltrationsmethode folgendes:

Name der Pflanze	Spalten um 10h a. m.	Spalten um 9½ h p. m.
Polygonum fagopyrum	weit geöffnet	mäßig geöffnet
,, convolvulus	mäßig ,,	geschlossen
,, lapathifolium	weit ,,	nahezu geschlossen
Cornus sanguinea	mäßig ,,	geschlossen
Pirus domestica	weit ,,	,,
Melandrium album	,, ,,	weit geöffnet
Solanum tuberosum	,, ,,	geschlossen
Trifolium pratense	,, ,,	nahezu geschlossen
Sambucus nigra	,, ,,	,,
Chenopodium Bonus Henricus	,, ,,	,,
Silene inflata	mäßig ,,	geschlossen
Saponaria officinalis	weit ,,	,,
Avena sativa	weit ,,	,,
Phaseolus sp.	mäßig ,,	,,

Wachsüberzüge an der Epidermis, Haarüberzüge usw. setzen bekanntlich die Transpiration herab und die Wasserabgabe wird sofort größer, wenn der Überzug entfernt wird; grüne Pflanzen transpirieren stärker als etiolierte; rot gewordene Blätter von Vitis vinifera verlieren viel langsamer Wasser als grüne; junge Blätter geben unter gleichen Verhältnissen mehr Wasser ab als alte; die Transpirationsgröße der Keimblätter übertrifft die der Laubblätter ums Doppelte; Benetzung von Blättern befördert deren Transpiration und Wasserleitung. Was den Einfluß der Lichtfarbe anlangt, so fand Wiesner, daß der leuchtende Spektralteil (orange, gelb) für die Transpiration weniger leistet als die roten und die blauen Strahlen. In kohlensäurefreier Luft findet nach Verschaffelt stärkere Transpiration statt als in normaler. In trockener Luft erreicht die Transpiration einen höheren Betrag als in feuchter, höhere Lufttemperatur steigert die Verdunstung, ebenso Luftzug. Man kann den „Wurzeldruck“, der dadurch zustande kommt, daß Wasser durch die äußeren Gewebe der Wurzel bis zu den Gefäßbündeln gelangt, in deren Leitungsbahnen es eingepreßt wird, auch künstlich ersetzen, wenn man einen etwas welk gewordenen Sproß durch einen Kork in das eine Ende eines mit Wasser beschickten U-Rohres so einpaßt, daß die Schnittfläche in Wasser taucht. Wird nun durch den längeren Schenkel Quecksilber eingegossen, bis es etwa 10 cm höher steht als im kürzeren Schenkel, so wird Wasser in den Sproß eingepreßt, der dadurch schließlich wieder straff wird. Wenn wir zu diesem Versuche einen Balsaminensproß wählen, Quecksilber im längeren Schenkel bis auf etwa 30 cm höher als im kürzeren eingießen und das Ganze in einen feuchten Raum stellen, so sehen wir an den Blattspitzen oder Blatträndern Wassertropfen auftreten, wie man sie auch ohne Quecksilber im feuchten Raume an Weizen- oder Maiskeimlingen oder an Wiesengräsern beobachten kann. (Guttation.) Es wäre interessant — was bisher nur in einzelnen Fällen (z. B. von Lepeschkin) geschehen ist — die Beschaffenheit der im Guttationstropfen gelösten Substanzen unter verschiedenen Verhältnissen zu untersuchen.

XXV. Der osmotische Druck pflanzlicher Flüssigkeiten.

Alle Flüssigkeiten des Organismus sind wässerige Lösungen von Elektrolyten, wie Salzen verschiedener Art, und Nichtelektrolyten, Lösungen der verschiedensten organischen Substanzen bis hinauf zu den Proteinen,

in welchen Lösungen man außerdem Kolloide verschiedener Art, Eiweißstoffe, höhere Kohlehydrate, Gerbstoffe suspendiert findet. Wir besitzen aber kein sicheres Kriterium darüber, ob eine Lösung eine wirkliche ist oder ob sie nur eine weitgehende Suspension vorstellt und bei welcher Kleinheit die vorhandenen gelösten Teilchen einen osmotischen Druck ausüben. Der osmotische Druck, welcher viel mehr an die Fähigkeit der Stoffe, Lösungen zu bilden als in Ionen zu zerfallen, gebunden ist, kann in erster Linie durch die Fähigkeit des betreffenden Stoffes, den Gefrierpunkt seiner Lösung zu erniedrigen oder ihren Siedepunkt zu erhöhen, bestimmt werden. ,,Der im Innern eines Lösungsmittels bis zu dem höchstmöglichen Grade zerteilte Stoff übt immer einen gewissen osmotischen Druck aus (erniedrigt immer den Gefrierpunkt der Lösung usw.), und wenn der Wert des osmotischen Druckes bei konstanter Temperatur nach dem Boyle-van 't Hoffschen Gesetze direkt proportional der Konzentration des ‚aufgelösten' Körpers ist, so versteht man, daß bei Gleichheit des Gewichtes der aufgelösten Substanz in einem gegebenen Volum der Lösung diejenige Substanz einen größeren osmotischen Druck ausüben wird, welche beim Auflösen sich in eine größere Anzahl von osmotisch wirksamen Teilchen zerteilt. Diese Teilchen können klein sein wie die H- und Cl-Ionen einer verdünnten wässerigen Lösung oder groß wie die Glykogen- oder Kaseinkörner einer stark konzentrierten Lösung dieser Substanzen; das ist von sekundärer Wichtigkeit, sie verleihen fast immer der Flüssigkeit in höherem oder geringerem Grade die Eigenschaft der Lösungen, einen osmotischen Druck auszuüben." (Botazzi.) So üben auch die gelösten Eiweißstoffe als kolloidale Bestandteile der organischen Flüssigkeiten einen gewissen osmotischen Druck aus; dieser ist dann die Summe der partiellen Drucke, welche in diesen Flüssigkeiten die einzelnen aufgelösten Substanzen ausüben: Elektrolyt- und Nichtelektrolyt-Kristalloide und -Kolloide. Für alle Flüssigkeiten des Organismus, die man in größerer Menge haben kann, dürfte sich für die Bestimmung des osmotischen Druckes die kryoskopische Methode der Feststellung ihrer Gefrierpunktserniedrigung am meisten eignen; die Werte derselben, mit Δ bezeichnet, sind approximativ proportional der ganzen osmotischen Konzentration der Lösungen. Da jedem tausendstel Grad der Gefrierpunktserniedrigung ein osmotischer Druck von 0,0120 Atmosphären entspricht, ist es leicht, die Werte von Δ in Atmosphären zu berechnen. Man muß aber, wenn man den osmotischen Druck von Zellsäften grüner Pflanzen bestimmt, immer darauf Rücksicht nehmen, daß die Chloroplasten durchaus nicht denselben osmotischen Druck zeigen müssen wie diese, ebenso wie ja die Blutkörperchen nicht den osmotischen Druck der Lymphe besitzen, und daß die Differenzen zwischen beiden zu interessanten Schlüssen führen könnten. Am gebräuchlichsten ist es, die zerkleinerten Organe mit der Presse auszudrücken und den Preßsaft zu filtrieren; hat man die Teile vorher mit Quarzsand gut zerrieben, so erhält man gewöhnlich einen hinreichend klaren Saft; ein die Säfte sicherer unverändert lassendes Verfahren ist es aber, den Blutungssaft der dekapitierten Pflanzenstengel aufzufangen, der, wenn die Transpiration genügend gehemmt ist, gewöhnlich in sehr großer Menge gewonnen werden kann. Die in der Pflanze zirkulierende Flüssigkeit führt die Produkte der assimilativen Chloroplastentätigkeit, entzieht den Chloroplasten ihre Erzeugnisse, gibt sie wieder durch Diffusion an andere Zellen ab und

muß so, je nach der Stoffwechseltätigkeit, nach der Art der Pflanze, nach den Bedingungen des Milieus, in dem sie lebt, nach Maßgabe der äußeren Bedingungen überhaupt in ihrer Zusammensetzung und ihrem osmotischen Druck sehr wesentlich wechseln (vie inconstante nach Cl. Bernard), was schon daraus hervorgeht, daß die Pflanze sich wechselnden äußeren Bedingungen sehr weitgehend anzupassen vermag. Reine Flüssigkeiten kann man besonders in den Milchgefäßen der Euphorbiaceen, Papaveraceen usw. und den Blutungssäften erhalten. Die Methode der Gefrierpunktserniedrigung (bestimmt man die elektrische Leitfähigkeit von Lösungen, so zieht man natürlich nur die Elektrolyte in Betracht) beruht darauf, daß gelöste Stoffe den Gefrierpunkt des reinen Lösungsmittels herabsetzen, und zwar proportional der Zahl der gelösten Grammoleküle (des Molekulargewichtes der Substanz in Grammen, auf den Liter gelöst), unabhängig von deren chemischer Natur. Man kann also aus dem Betrage der Gefrierpunktserniedrigung von Lösungen die Zahl der in der Volumeinheit darin gelösten Moleküle bestimmen, sobald man die Gefrierpunktserniedrigung einer gleichartigen Lösung bekannter Molekularkonzentration ermittelt hat. Für Wasser beträgt die Gefrierpunktserniedrigung durch ein Grammolekül, im Kubikzentimeter gelöst, 1880° C. Hat man demnach die Konstante für ein bestimmtes Lösungsmittel experimentell bestimmt, so findet man die Zahl der im Kubikzentimeter einer Lösung von bekannter Gefrierpunktserniedrigung Δ gelösten Grammoleküle nach der Gleichung $\frac{x}{1} = \frac{\Delta}{1880}$; $x = \frac{\Delta}{1880}$. Besitzt ein Stoff das bekannte Molekulargewicht M, so können wir nach der Gleichung $M = \frac{K \cdot p}{\Delta}$, worin p = Prozente bedeutet, die für jede Konzentration in Prozenten Gramm pro 100 ccm Lösung zugehörige Gefrierpunktserniedrigung Δ ausrechnen und umgekehrt für jede Gefrierpunktserniedrigung die zugehörige Konzentration. Die Gefrierpunktserniedrigung bei einer bekannten Konzentration gestattet ferner die Ermittlung eines unbekannten Molekulargewichtes. Man bestimmt also zunächst den Gefrierpunkt des Lösungsmittels (z. B. des Wassers), dann die Gefrierpunktserniedrigung einer Lösung, welche ein Grammolekül eines Stoffes von bekanntem Molekulargewicht in einem bekannten Volumen des Lösungsmittels enthält. Die Gefrierpunktserniedrigung ist dann für das Grammolekül eines beliebigen Stoffes in diesem Lösungsmittel eine konstante Größe K. Bestimmt man nun die Gefrierpunktserniedrigung Δ eines Stoffes von unbekanntem Molekulargewicht M, so ist ΔM = konstant.

Für die praktische Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung ist der von Beckmann konstruierte Apparat in Gebrauch. Derselbe besteht in der Hauptsache aus einer weiten, dickwandigen Eprouvette, welche zum Einführen der Substanz mit einem seitlichen Aufsatzrohre versehen ist. In der Eprouvette befindet sich ein in Hundertstel Grade geteiltes Thermometer und eine Rührvorrichtung, die am besten elektrisch in Bewegung gesetzt wird. Das „Gefrierrohr" befindet sich in einem weiten, gläsernen Gefäß, das eine Flüssigkeit enthält, die das Lösungsmittel bis unter seinen Gefrierpunkt abkühlt, und um dieses Abkühlen gleichmäßig zu gestalten, befindet sich das Ganze in einem gläsernen Luftmantel. Die Lösung läßt man unter fortwährendem Rühren bis

zur beginnenden Erstarrung abkühlen, wobei man das Erstarren eventuell durch Einimpfen eines Kristalls der festen Substanz einleitet. Dann hört man mit der Abkühlung auf, der Quecksilberfaden des Thermometers, welcher bis tief unter den Erstarrungspunkt gesunken war, steigt jetzt infolge Freiwerdens der latenten Wärme und hält sich schließlich 2—3 Minuten an einem Punkte konstant, der als der wahre Gefrierpunkt der Lösung betrachtet wird.

Noch einfacher gestaltet sich die Handhabung des in der Biochemie viel benutzten Friedenthalschen Apparates (Fig. 179). Das Außengefäß ist mit einem Gemenge von Eis und Kochsalz gefüllt, darauf wird soviel Wasser aufgegossen, daß das in Grade geteilte Außenthermometer -2^0 anzeigt. Jetzt taucht man das mit etwa 25 ccm wiederholt destillierten Wassers beschickte Innengefäß, in dem sich das geeichte, in Hundertstelgrade geteilte Thermometer T befindet, direkt in die Außenlösung und beobachtet unter gleichmäßigem Rühren mit dem Platinrührer r das Fallen des Quecksilbers. Wenn in der unterkühlten Flüssigkeit die Eisbildung beginnt, steigt das Quecksilber wieder; in diesem Moment nimmt man es aus der Kältemischung, setzt es in den inneren Luftmantel und beobachtet mit der Lupe unter fortwährendem Rühren auch mit R das Erreichen des höchsten Standes, auf welchem Schwankungen von höchstens $^1/_{100}$ Grad eintreten. Das ist nun der Gefrierpunkt reinsten Wassers, welcher gewöhnlich nicht mit dem am Thermometer t angegebenen Nullpunkt übereinstimmt. Auf diesen gefundenen Nullpunkt, der als Mittel von mehreren Beobachtungen gewählt wird, bezieht man die spätere Bestimmung. Für diese selbst wird der Innenzylinder mit einer Lösung bekannter Konzentration gefüllt und deren Gefrierpunkt bestimmt. Mit Hilfe der Formel $M = \frac{K \cdot p}{\Delta}$ überzeugt man sich, ob das bekannte Molekulargewicht der gelösten Substanz in der bekannten Konzentration p aus der gefundenen Erniedrigung Δ sich tatsächlich ergibt. Als Konstante nimmt man am besten 18,900 die Abweichung; des bestimmten vom berechneten Molekulargewicht soll nicht über 2 % betragen. Um das Versagen der Eisabscheidung zu vermeiden, ist dem Apparat ein kleiner Impfstift K beigegeben, bestehend aus einem Glasröhrchen mit kleinem Wattebausch an der Spitze. Tränkt man die Watte mit etwas Wasser und taucht den durch ein Außenrohr geschützten Impfstift in die Kältemischung, so gefriert das Wasser im Wattebausch und veranlaßt beim Berühren des Platinrührers mit den Eiskristallen und Versenken des Rührers in die unterkühlte Lösung sofortigen Beginn des Gefrierens. Die Unterkühlung kann mit Hilfe des Impfstiftes bei einer beliebigen Temperatur unterbrochen werden. Bisweilen bleibt der dünne Quecksilberfaden im Thermometer an einer Stelle hängen ohne sich weiterzubewegen. Man kann das vermeiden, indem man mit einem Korkhammer die Kugel des Quecksilbers leise erschüttert; auch dieses Klopfen kann ebenso wie das Rühren durch einen elektrischen Mechanismus besorgt werden.

Fig. 179. Friedenthals kryoskopischer Apparat.

Eine thermoelektrische Methode zur Bestimmung der Gefrierpunkts-

erniedrigung sehr kleiner Flüssigkeitsmengen mit bemerkenswerter Genauigkeit beschreiben Dixon und Atkins. Das Beckmannsche Quecksilberthermometer wird von ihnen durch ein Thermoelement ersetzt und der Gefrierpunkt des Wassers direkt mit dem des Saftes in Relation gesetzt. Mit einem passenden Galvanometer und einem einzigen Element kann man leicht eine Bewegung des vom Galvanometerspiegel herkommenden Lichtstreifens auf der Galvanometerskala um 1 mm bei einer Temperaturdifferenz von 0,01° C erzielen.

Ein Stück durch Seide isolierten Nickeldrahtes von 0,15 mm Durchmesser und 30 cm Länge wird zur Temperaturmessung benutzt. Die Enden des Drahtes sind einige Millimeter weit von der Seidenumwicklung entblößt und an ein gut isoliertes Kupferblech angelötet. Der Nickeldraht ist in V-Form gebogen und jedes Blech ist an den Arm des V-Stückes angebracht, zu welchem es gehört. Am Zusammenstoß der V-Enden sind die Bleche zusammengeklemmt und divergieren von da wieder, um mit den Galvanometerpolen in Verbindung zu stehen, und winden sich um die Stützen *r* und *r'* herum, die gleichzeitig als Rührer dienen. Die betreffende Bewegung wird in beiden Eprouvetten durch Führung mittels der Schraube *S* gleichmäßig gestaltet. Die Versteifung der V-Arme wird durch paraffinierte Holzstäbchen bewirkt. Die zu prüfende Lösung einerseits, das destillierte Wasser anderseits werden in kleine Eprouvetten *J* und *J'* von 10 cm Länge und 1 cm Durchmesser gebracht und diese mittels eines großen Korkstückes *c*, das durch den starken Draht *w* festgehalten ist, in einem zylindrischen Glasgefäß *e* untergebracht, welches letztere durch *d* in eine breitere Glaswanne *m* mit einer Kältemischung eingetaucht wird. Bezüglich der näheren Details, der Fehlerquellen und deren Vermeidung sowie des Kalibrierens muß auf das Original verwiesen werden. Der Saft (es genügen 2,5—5 ccm) kann aus Blättern leicht folgendermaßen gewonnen werden: Einige Blätter werden längs der Mittelrippe abgezogen und zu einem kleinen Kügelchen zusammengeknüllt, das Kügelchen in eine doppelte Umhüllung von feinem Leinen getan und zwischen zwei kleine Silberplatten einer starken Schraubenpresse gesteckt, wobei entweder schon nach der ersten mehr oder weniger starken Pressung oder nach wiederholtem Pressen genügend Saft gewonnen wird. Diese Methode liefert zuverlässigere Werte, als wenn etwa Blätterbrei mit Wasser versetzt und filtriert oder ausgepreßt würde. Sobald Galvanometer und Skala an Ort und Stelle und die Drahtenden an den Polen des Galvanometers befestigt sind, wird frisch gekochtes destilliertes Wasser in die eine Eprouvette und ca. 3 ccm des Preßsaftes in die andere eingefüllt und die Leitenden des Thermoelementes hineingetaucht. Die Kältemischung wird auf eine um ca. 1° C tiefere Temperatur gebracht als der erwartete Gefrierpunkt des Saftes. Im destillierten Wasser bildet sich eine Eissäule, in der die Drahtleitung steckt. Die Kristallisation des unterkühlten Saftes wird durch Impfung mit einem Eiskristall bewirkt. Nachdem diese eingetreten ist, wird der Rahmen mit den beiden Eprouvetten in den Gefrierraum gebracht und durch die Klemmen die Verbindung mit dem Galvanometer hergestellt; während dieser Zeit dienen die Stützen

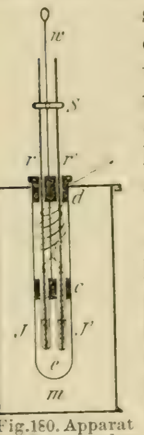


Fig. 180. Apparat zur Messung der Gefrierpunktserniedrigung auf elektrischem Wege nach Dixon u. Atkins.

der Leitungsdrähte in dem gefrierenden Saft als Rührer. Sobald die Verbindung hergestellt ist, wandert der Lichtfleck des Galvanometer spiegels nach aufwärts und seine endliche Einstellung bezeichnet die Gefrierpunktserniedrigung unter 0° C. Man läßt wieder aufschmelzen und wiederholt die Bestimmung mehrere Male und nimmt schließlich das Mittel. Durch Umkehrung des Stromes läßt man den Lichtfleck nach der entgegengesetzten Seite wandern und notiert auch hier den Punkt seiner Einstellung. Die Gefrierpunktserniedrigung Δ kann nach der Nernstschen Formel $\Delta \cdot 12{,}03 = P$ in Atmosphären zur Berechnung des osmotischen Druckes verwendet werden.

Nach den Untersuchungen von Dixon und Atkins[1]) bleibt der osmotische Druck bei einem Individuum unter ähnlichen Bedingungen derselbe, verändert sich aber unter verschiedenen Verhältnissen sehr stark; so wurden bei Syringa vulg. Werte von 11,58 bis zu 24,58 Atmosphären gefunden, ohne Unterschied aber, ob die Blätter höher oder niedriger am Baume standen der osmotische Druck ist stets viel höher als der Wasserversorgung entspricht. Die Natur der den osmotischen Druck bedingenden Substanzen ist hauptsächlich durch die Kohlensäureassimilation bedingt, ferner durch die Hydrolyse der osmotisch unwirksamen hochmolekularen Komplexe in solche von osmotischer Wirksamkeit, wenn die abgepflückten Blätter im Dunkeln gehalten werden; er sinkt dagegen in Schattenblättern (z. B. von 18,10 zu 11,58 Atm.). Wurzeln zeigen immer geringe Drucke (4—6 Atm.). Die größte Gefrierpunktserniedrigung, —2,234° C entsprechend 26,87 Atm., wurde beim Safte von Syringa vulg., die niedrigste, —0,314° C = 3,97 Atm., bei Chamaerops humilis beobachtet; aber dieses sind noch nicht die Grenzzahlen, sondern es sind im Sommer, bei großem Zuckerreichtum der Blätter, bei Syringa sicherlich Werte von 30—40 Atm. erreichbar.

Kryoskopische Bestimmungen von Pflanzensäften sind vielfach, aber nur wenige methodisch gemacht worden. Es sei hier eine Reihe nach dem Referate von F. Botazzi („Osmotischer Druck und elektrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen pflanzlichen und tierischen Organismen", Ergebnisse der Physiologie 7, S. 222 [1908]) wiedergegeben. Sutherst stellte fest bei:

	Δ	osmot. Dr. in mm Hg
Kürbis, Blatt und Stengel	0,75°	6 880,0
„ Frucht	0,75°	6 880,0
Schwedische Futterrübe (ganze Pflanze)	1,0°	9 173,2
Sellerie (grüner Stengel, Blatt)	1,4°	12 842,48
„ (weiße Teile)	0,75°	6 880,0
Gelbe Rübe, Blatt und Stengel	1,2°	11 007,84
„ „ Wurzel	1,0°	9 173,2
Kohl, äußeres Blatt	1,1°	10 090,52
„ Herz	0,85°	7 797,22
Apfel (Frucht)	1,4°	12 842,48
Birne (Frucht)	1,75°	16 053,2

[1]) H. Dixon and G. Atkins, On osmotic pressure in plants; and on a thermoelektric method of determining freezing-points. Notes from the botanical school of Trinity College. Dublin 2, November 1910.

Name der Pflanze	Blatt oder Deckblatt	Stiel, Blütenstiel	Wurzelstock oder Wurzel	Blüten	Früchte	Bemerkungen
Liliaceae.						
Aloe africana	0,25°	—	—	—	—	Bodenkultur, vom botanischen Garten.
,, ,,	0,22°	—	—	—	—	Bodenkultur, anderes Exemplar.
,, ,,	0,20°	—	—	—	—	,, ,, ,,
,, arborescens	0,14°	—	—	—	—	,, ,, ,,
,, humilis	0,32°	—	—	—	—	,, ,, ,,
,, mitraeformis	0,36°	—	—	—	—	,, ,, ,,
,, Serra	0,33°	—	—	—	—	,, ,, ,,
,, socotrina	0,24°	—	—	—	—	,, ,, ,,
Yucca filamentosa	—	0,90°	—	—	—	Topfkultur.
Asparagus aphyllus	—	0,89°	—	—	—	Extremität des Blumenstengels.
,, ,,	—	0,82°	—	—	—	Spontane Pflanze (Insel St. Gilla).
,, ,,	—	0,88°	—	—	—	,, ,, (gekaufte Wurzelknospe).
Ruscus hypoglossus	—	0,71°	—	—	—	Schößling vom botanischen Garten.
Amaryllideae						
Agave americana	0,52°	—	—	—	—	Pflanze in voller Entwicklung.
,, ,,	0,48°	—	—	—	—	Pflanze in voller Entwicklung, anderes Exemplar.
,, ,,	0,31°	—	—	—	—	Welkes Blatt einer verdorrten Pflanze.
,, ,,	—	0,73°	—	—	—	Äußerste Werte eines Blütenstengels.
,, ,,	—	0,84°	—	—	—	,, ,, ,, ,,
,, mexicana	0,68°	—	—	—	—	Bodenkultur, Blattgrund.
,, ,,	0,79°	—	—	—	—	,, Spitze des Blattes.
,, rigida	0,69°	—	—	—	—	,, Blattgrund.
,, ,,	0,78°	—	—	—	—	,, Blattspitze.
,, Salmiana	0,66°	—	—	—	—	,, gesundes Blatt.
,, ,,	0,63°	—	—	—	—	,, oberes grünes Deckblatt.
,, ,,	0,77°	—	—	—	—	,, rötliches Deckblatt
,, ,,	0,80°	—	—	—	—	,, unteres grünes Deckblatt.
,, ,,	0,81°	—	—	—	—	,, untere rötliche Basis.
,, ,,	—	—	—	0,71°	—	,, Blütenknospen.
,, ,,	—	0,74°	—	—	—	,, Stengelextremität mit Deckblatt.
,, ,,	—	0,72°	—	—	—	,, Stengel, 5 cm von der Spitze

Agave Salmiana	—	0,58 ⁰	—	—	—	Bodenkultur,	Mark des Stengels, 86 cm von der Spitze.
,, ,, ...	—	0,49 ⁰	—	—	—	,,	Rinde, 86 cm von der Spitze.
,, Scolymus	0,47 ⁰	—	—	—	—	,,	gesunde Blätter.
Fourcroya gigantea . . .	0,46 ⁰	—	—	—	—	,,	,, ,,
Haemanthus coccineus .	0,60 ⁰	—	—	—	—	,,	,, ,,
Scitamineae. .							
Musa Dacca	—	—	0,34 ⁰	—	—	,,	Wurzelstock.
,, ,, ...	—	0,49 ⁰	—	—	—	,,	Knospenspitze.
,, N. Caledoniae. . .	—	—	0,61 ⁰	—	—	,,	Wurzelstock.
,, ,, ,, . . .	—	0,60 ⁰	—	—	—	,,	junges, grünes Blatt.
,, ,, ,, . . .	0,57 ⁰	—	—	—	—	,,	Blatt nicht aufgewickelt, etioliert.
Urticaceae.							
Ficus elastica.	0,50 ⁰	—	—	—	—	,,	Blätter der Knospe.
,, ,, ...	0,59 ⁰	—	—	—	—	,,	Blätter mit Keimen.
,, nervosa (F. magnolioides Bsi)	0,69 ⁰	—	—	—	—	,,	Blätter.
,, rubiginosa	0,70 ⁰	—	—	—	—	,,	,,
Polygonaceae.							
Rumex Lunaria	—	0,69 ⁰	—	—	—	,,	Keime.
,, nervosa	0,67 ⁰	—	—	—	—	,,	Blätter.
,, ,, ...	—	0,82 ⁰	—	—	—	,,	Keime.
,, ,, ...	—	0,85 ⁰	—	—	—	,,	anderes Exemplar.
Chenopodiaceae.							
Atriplex crassifolia . . .	—	5,52 ⁰	—	—	—	Keime,	Salinendeiche (August).
,, Halymus	—	2,14 ⁰	—	—	—	,,	Botanischer Garten (März).
,, ,, ...	—	2,66 ⁰	—	—	—	,,	in der Nähe der Meeresküste (April).
Halocnemum strobilaceum	—	3,76 ⁰	—	—	—	,,	in der Nähe der Meeresküste (April).
,, ,,	—	4,89 ⁰	—	—	—	,,	Salinendeiche (März).
,, ,,	—	5,72 ⁰	—	—	—	,,	,, (April).
,, ,,	—	7,25 ⁰	—	—	—	,,	grün ,, (August).
,, ,,	—	7,26 ⁰	—	—	—	,,	,, ,,
,, ,,	—	8,50 ⁰	—	—	—	,,	rötlich ,,
Arthrocnemum macrostachys	—	3,28 ⁰	—	—	—	,,	,, (März).

Name der Pflanze	Blatt oder Deckblatt	Stiel, Blütenstengel	Wurzelstock oder Wurzel	Blüten	Früchte	Bemerkungen
Obione portulaccoides . .	—	7,25°	—	—	—	Salinendämme (28. August).
,, ,, . .	—	7,75°	—	—	—	Nicht weit von den Salinen (März).
Salicornia herbacea . . .	—	2,32°	—	—	—	Äußerer Kanal der Salinen (März).
,, ,, . . .	—	3,26°	—	—	—	,, ,, ,, ,, (April).
,, ,, . . .	—	4,28°	—	—	—	Salinendämme (August).
,, ,, . . .	—	—	—	4,88°	—	,, ,,
,, ,, . . .	—	6,55°	—	—	—	Äußerer Kanal der Salinen, rötlich (August).
,, ,, . . .	—	6,62°	—	—	—	Nahe der Salzhaufen, rötlich (August).
,, fruticosa . . .	—	4,62°	—	—	—	Scaffa di Cagliari, grün (25. August).
,, ,, . . .	—	7,48°	—	—	—	Salinendämme, rot (28. August).
Salsola Kali	—	3,28°	—	—	—	Weit vom Meere, am Morgen.
,, ,, ...	—	3,36°	—	—	—	,, ,, ,, am Abend.
,, Soda	—	4,10°	—	—	—	Rand des salzigen, stehenden Wassers.
,, vemiculata . . .	—	2,65°	—	—	—	Spontan im Garten (März).
,, ,, . . .	—	2,60°	—	—	—	,, ,, ,, ,,
,, ,, . . .	—	2,87°	—	—	—	,, ,, ,, (August).
,, ,, . . .	—	4,71°	—	—	—	Salinendämme (August).
Suaeda fruticosa	—	2,36°	—	—	—	Pflanze aus dem botanischen Garten (März).
,, ,, ...	—	2,38°	—	—	—	Meeresküste (März).
,, ,, ...	—	4,04°	—	—	—	Pflanze aus dem Garten (August).
,, ,, ...	—	5,63°	—	—	—	Pflanze aus den Salinen, rot (August).
,, splendens	—	5,49°	—	—	—	,, ,, ,, ,, ,, ,,
A i z o a c e a e.						
Mesembryanthemum crystallinum	—	—	—	2,78°	—	Sub-spontan im Garten (21. Juni).
Mesembryanthemum crystallinum	—	0,98°	—	—	—	,, ,, ,, (9. März).
Mesembryanthemum acinaciforme	1,04°	—	—	—	—	Gepflanzt im Garten (9. März).
Mesembryanthemum linguaeforme	1,18°	—	—	—	—	,, in Fermoglio mit Blättern.
Mesembryanthemum nodiflorum	1,48°	—	—	—	—	Nahe bei einer Hauswand (April).
Mesembryanthemum nodiflorum	2,76°	—	—	—	—	Nahe bei Salzhaufen (April).

Mesembryanthemum nodiflorum	4,06 °	—	—	—	—	Salinen nahe bei Kanälen (28. August).
Phytolaccaceae.						
Phytolacca decandra . .	—	—	—	1,364 °	—	Pflanzen aus dem botanischen Garten, Blumen (8. August).
,, ,, . .	—	—	—	—	2,37 °	Pflanze aus dem botanischen Garten, Frucht (16. August).
,, dioica . . .	—	1,14 °	—	—	—	Pflanze aus dem botanischen Garten, Spitze mit Blättern.
,, ,, . . .	—	1,55 °	—	—	—	Pflanze aus dem botanischen Garten, letzte Blätter.
,, ,, . . .	—	—	—	—	1,05 °	Pflanze aus dem botanischen Garten, grüne Beeren.
,, ,, . . .	—	—	—	—	1,08 °	Pflanze aus dem botanischen Garten, grüne Beeren.
,, ,, . . .	—	—	—	—	1,24 °	Pflanze aus dem botanischen Garten, bei der Reifung.
Anonaceae.						
Anona dulcis	1,02 °	—	—	—	—	Im Garten gepflanzt.
Capparidaceae.						
Capparis rupestris . . .	1,59 °	—	—	—	—	Spontan im Garten.
Oxalidaceae.						
Oxalis ceruna	—	1,0 °	—	—	—	Blütenstengel.
Terebinthaceae.						
Citrus media	—	—	—	—	1,38 °	Junge Fruchtknoten.
,, ,, ...	—	—	—	—	0,69 °	Reife Frucht.
Schinus Molle	—	1,54 °	—	—	—	Im Garten gepflanzt, junge Sprößlinge.
Euphorbiaceae.						
Euphorbia canariensis. .	—	0,32 °	—	—	—	Im Garten gepflanzt.
,, Caput Medusae	—	0,24 °	—	—	—	,, ,, ,,
,, grandidens. .	—	0,29 °	—	—	—	,, ,, ,,
,, officinarum .	—	0,30 °	—	—	—	,, ,, ,,
Umbelliferae.						
Bupleurum fruticosum ,	1,72 °	—	—	—	—	,, ,, ,,
Araliaceae.						
Aralia palmata	0,63 °	—	—	—	—	,, ,, ,,
Heptapleurum vemilosum	0,64 °	—	—	—	—	,, ,, ,,

Name der Pflanze	Blatt oder Deckblatt	Stiel, Blütenstengel	Wurzel oder Wurzelstock	Blüten	Früchte	Bemerkungen
Ampelidaceae.						
Vitis vinifera	—	—	—	—	0,71 °	Junge Fruchtknoten (30. Juni).
,, ,, ...	—	—	—	—	2,51 °	Reife Früchte (5. September).
Crassulaceae.						
Cotyledon orbiculatum . .	0,55 °	—	—	—	—	Blätter von Pflänzchen, erste Entwicklung
,, ,, . .	0,44 °	—	—	—	—	Abgerissene Pflanze seit Mai (28. Aug.).
,, umbilicus . .	0,41 °	—	—	—	—	Rosette von gesunden Blättern.
Crassula lactea	0,58 °	—	—	—	—	,, ,, ,, ,,
Sedum caeruleum . . .	0,55 °	—	—	—	—	Spontan im Garten, Blätter und Stiele.
,, maximum	0,44 °	—	—	—	—	Von einer Pflanze aus Vallombrosa.
,, ,, ...	0,41 °	—	—	—	—	Von einer Pflanze aus Arizzo, in Töpfe gepflanzt.
,, ,, ...	—	0,42 °	—	—	—	Von einer Pflanze aus Vallombrosa.
,, ,, ...	0,58 °	—	—	—	—	Pflanze vom botanischen Garten, in der Hitze verwelkt.
,, ,, ...	—	0,70 °	—	—	—	Pflanze vom botanischen Garten, in der Hitze verwelkt.
,, reflexum	0,55 °	—	—	—	—	Blätter und Stiele.
,, stellatum . . .	0,50 °	—	—	—	—	,, ,, ,,
Sempervivum arboreum .	0,36 °	—	—	—	—	Blütenrosette in voller Entwicklung.
Cactaceae.						
Cereus candelabrius . . .	—	0,36 °	—	—	—	Junge Triebe.
,, Napoleonis . . .	—	0,40 °	—	—	—	,, ,,
,, ,, . . .	—	0,57 °	—	—	—	Triebe verwelkt durch Hitze.
,, peruvianus . . .	—	0,34 °	—	—	—	Triebe jung.
,, serpentinus . . .	—	0,56 °	—	—	—	,, ,,
,, tetragonus . . .	—	0,46 °	—	—	—	,, ,,
Echinocactus multiplex .	—	0,48 °	—	—	—	Stück des Stieles (8. März).
,, ,, .	—	0,48 °	—	—	—	Junger Trieb (1. April).
,, ,, .	—	0,68 °	—	—	—	Dickerer Trieb (19. April).
Opuntia amyclaea . . .	—	0,51 °	—	—	—	Junge Spatula.
,, ,, . . .	—	—	—	0,54 °	—	Blütenknospen, Receptaculum 12 mm Durchmesser.
,, ,, . . .	—	—	—	0,42 °	—	Entfaltete Blume, Receptaculum 3 cm Durchmesser.
,, ,, . . .	—	—	—	0,44 °	—	Entfalt. Blume, Fruchtknoten befruchtet.

Opuntia cylindrica . . .	—	0,58°	—	—	—	Triebe.
„ decipiens . . .	—	0,32°	—	—	—	„
„ „ . . .	—	0,20°	—	—	—	„
„ Ficus indica . .	—	0,59°	—	—	—	Junge Spatula.
„ „ „ . .	—	—	—	—	0,54°	Receptaculum von 1,5 cm Durchmesser.
„ „ „ . .	—	—	—	—	0,88°	Innerer Teil von unreifen Früchten.
„ „ „ . .	—	—	—	—	0,56°	Kortikaler Teil „ „ „
„ „ „ . .	—	—	—	—	0,46°	Innerer Teil der fast reifen Früchte.
„ „ „ . .	—	—	—	—	1,44°	Kortikaler Teil der fast reifen Früchte.
„ „ „ . .	—	—	—	—	2,17°	Innerer Teil der Frucht, reif.
„ „ „ . .	—	—	—	—	1,36°	Kortikaler Teil, Frucht reif.
„ imbricata . . .	—	0,73°	—	—	—	Trieb.
„ inermis	—	0,56°	—	—	—	Spatula jung
„ „	—	0,58°	—	—	—	„ alt.
„ „	—	0,47°	—	—	—	Andere Spatula.
„ leucantha . . .	—	0,44°	—	—	—	Spatula gut entwickelt.
„ leucotrica . . .	—	0,63°	—	—	—	„ „ „
„ microdasis . .	—	0,51°	—	—	—	„ „ „
„ piccolominea .	—	0,52°	—	—	—	„ jung.
„ „ .	—	0,64°	—	—	—	Ausgewachsene Spatula (kortikaler Teil).
„ „ .	—	0,56°	—	—	—	„ „ (zentraler Teil).
„ „ .	—	0,62°	—	—	—	Untere Spatula, Rinde und Mark.
„ „ .	—	—	—	—	0,46°	Receptaculum (21. Juni).
„ „ .	—	—	—	—	2,08°	Reife Frucht (5. September).
„ „ .	—	—	—	—	1,42°	„ „ (kortikaler Teil).
„ „ .	—	—	—	—	2,06°	„ „ (zentraler Teil).
„ pubescens . . .	—	0,28°	—	—	—	Junge Spatula.
Rosaceae.						
Pirus communis	—	—	—	—	1,03°	Junge Früchte, Durchmesser 1,5 cm (9. Mai).
„ „	—	—	—	—	2,46°	Reife Früchte (11. Juli).
Leguminosae.						
Caesalpinia Crista. . . .	1,13°	—	—	—	—	Blätter von jungen Trieben.
Vicia Faba.	—	0,64°	—	—	—	Stiel und Blätter von etiolierten Pflanzen.
„ „	—	0,86°	—	—	—	Stiel und Blätter von nicht etiolierten Pflanzen.
Balanophoraceae.						
Cynomoreum coccineum.	—	1,52°	—	—	—	Blütenstengel, an den Salinen gesammelt.
„ „	—	1,34°	—	—	—	Blütenstengel von der Insel St. Gilla.

Name der Pflanze	Blatt oder Deckblatt	Stiel, Blütenstempel	Wurzel oder Wurzelstock	Blüten	Früchte	Bemerkungen
Apocynaceae.						
Nerium Oleander	—	1°32	—	—	—	Keime mit Blättern.
Plumbaginaceae.						
Statice globularioides . .	2°49	—	—	—	—	Wert von zwei Bestimmungen.
„ Limonium . . .	1°52	—	—	—	—	Insel von St. Gilla (Teich).
Hydrophyllaceae.						
Wigandia Caracassana . .	0°81	—	—	—	—	Blätter der jungen Triebe.
Scrophulariaceae						
Tecoma Twediana . . .	—	1°04	—	—	—	Sprosse.
Borraginaceae.						
Tournefortia fruticans .	0°81	—	—	—	—	Letzte Blätter der Äste.
Solanaceae.						
Grabowskia boerhaviaefolia	—	1°28	—	—	—	Sprosse.
Acanthaceae.						
Gendarussa Adatoda . .	—	2°26	—	—	—	Ziemlich saftarme Blätter und Äste.
Myoporinaceae.						
Myoporum debile . . .	1°34	—	—	—	—	Blätter der jungen Äste (23. Februar).
„ „ . . .	—	2°44	—	—	—	Am Morgen gesammelte Sprosse (28. Aug.).
„ „ . . .	—	3°05	—	—	—	Am Abend gesammelte Sprosse (28. Aug.).
„ serrulatum . .	1°51	—	—	—	—	Blätter der neuen Äste (April).
„ punctulatum	1°89	—	—	—	—	„ sehr dichter Saft.
Plantaginaceae.						
Plantago maritima . . .	1°12	—	—	—	—	Gesammelt an der Plaja (9. März).
Caprifoliaceae.						
Viburnum Tinus	—	1°77	—	—	—	Triebe mit Blättern (20. April).
Compositae.						
Inula chritmoides . . .	1°95	—	—	—	—	Nicht weit vom Meere (9. März).
Kleinia articulata . . .	—	0°54	—	—	—	Sprosse (21. Februar).

[1]) F. Cavara, Rendic. dell' Acad. R. d. Sc. fis. e. matem. di Napoli Nr. 12 (1906).

Pantanelli ermittelte, daß die weißlichen Zellen von Sambucus nigra und Acer negundo einen konzentrierteren Zellsaft besitzen als die grünen, bei absterbenden Pflanzenteilen zeigt sich im allgemeinen eine Steigerung des osmotischen Druckes.

In systematischer Weise untersuchte Cavara die *osmotischen Druckes sehr verschiedener Pflanzen und Pflanzenorgane in den verschiedensten Lebens- und Entwicklungszuständen*, und durch diese Bestimmungen wird erst klar, wie sehr das innere Milieu jeder Pflanze und sogar jedes Pflanzenteiles für sich, je nach den Lebensbedingungen sich ändert und wie die osmotische Konzentration durch die Stoffwechselvorgänge verändert wird. Wegen ihrer Wichtigkeit seien diese Tabellen hier S. 468—474 aus Botazzis Referat voll reproduziert.

In den Blättern oder Organen, welche sehr intensiv assimilieren, sehen wir den osmotischen Druck bei den verschiedenen Pflanzen sehr variieren und je nach dem Standort wechseln, in der Nähe von Salzlagern bis zu 33 Atmosphären steigen. Die folgende Tabelle gibt, aus der Gefrierpunktserniedrigung berechnet, einige der Werte in Atmosphären:

Aloe arborescens	Δ = 0,14°	π = 1,684	Atm.
Haemanthus coccineus	„ = 0,60°	„ = 7,218	„
Tournefortia fruticans	„ = 0,81°	„ = 9,744	„
Plantago maritima	„ = 1,12°	„ = 13,473	„
Statice Limonium	„ = 1,52°	„ = 18,285	„
Inula chritmoides	„ = 1,95°	„ = 23,458	„
Statice globularioides	„ = 2,49°	„ = 29,954	„
Agave americana	„ = 0,52°	„ = 6,255	„
Ficus rubiginosa	„ = 0,70°	„ = 8,421	„
Mesembryanthemum acinaciforme	„ = 1,04°	„ = 12,511	„
Myoporum debile	„ = 1,34°	„ = 16,120	„
Bupleurum fruticosum	„ = 1,72°	„ = 20,691	„
Gendarussa Adatoda	„ = 2,26°	„ = 27,187	„

Bei der großen Ungleichheit der verschiedenen Werte ist doch eine gewisse Gleichmäßigkeit zwischen den Arten einer Gattung vorhanden, besonders wenn man ein und dasselbe Organ in Betracht zieht, ebenso wie dann wieder zwischen Gattungen derselben Familie. Diese Verwandtschaft in den Werten für den osmotischen Druck ist der Ähnlichkeit der ökologischen Anpassungen zuzuschreiben. Saftige Pflanzen haben einen weniger konzentrierten Saft als fette, aber der osmotische Druck auch jener wird stark in die Höhe geschraubt, wenn sie auf sehr salzreichem Boden vegetieren[1]); Mittelwerte des osmotischen Druckes werden von Pflanzen mit sauren oder alkalischen Säften gegeben, wie von Polygonaceae, Rhammaceae, Oxalidaceae, Rosaceae usw. Die ökologischen Anpassungen bedingen aber osmotische Druckwerte, welche sich mit einer gwissen Konstanz erhalten, auch wenn das betreffende Exemplar auf andere Standorte übersiedelt; am interessantesten verhalten sich nach dieser Richtung die Halophyten, welche überhaupt die höchsten vorkommenden Drucke aufweisen. Im allgemeinen stammen bei allen Pflanzen die niedrigsten Werte von Pflanzen oder Organen, die im Frühjahr untersucht wurden, die höchsten von solchen, die im Sommer oder Herbst gesammelt sind:

[1]) H. Fitting, Die Wasserversorgung und die osmotischen Druckverhältnisse der Wüstenpflanzen. Zeitschr. f. Bot. 3, 209 (1911).

	März—April	Aug.—Sept.
Atriplex crassifolia	—	Δ = 5,25 ⁰
Halochnemum strobilaceum	Δ = 3,76 ⁰	„ = 7,25 ⁰
„ „	„ = 4,89 ⁰	„ = 7,26 ⁰
„ „	„ = 5,72 ⁰	„ = 8,50 ⁰
Arthrochnemum marcostachys	„ = 3,28 ⁰	„ = —
Obione portulaccoides	„ = 2,75 ⁰	„ = 7,25 ⁰
Salicornia herbacea	„ = 2,32 ⁰	„ = 4,20 ⁰
„ „	„ = 3,26 ⁰	„ = 6,55 ⁰
„ „	„ —	„ = 6,62 ⁰
„ fruticosa	„ —	„ = 7,48 ⁰
Salsola Kali	„ = 3,28 ⁰	„ —
„ „	„ = 3,26 ⁰	„ —
„ Soda	„ —	„ = 4,10 ⁰
„ vermiculata	„ = 2,60 ⁰	„ = 2,87 ⁰
„ „	„ —	„ = 4,71 ⁰
Suaeda fruticosa	„ = 2,36 ⁰	„ —
„ „	„ = 2,38 ⁰	„ —
„ „	„ —	„ = 4,04 ⁰
„ „	„ —	„ = 5,63 ⁰
„ splendens	„ —	„ = 5,49 ⁰

Sehr große Saftkonzentrationen, wie die von Salicornia (Δ = 6,62 ⁰), werden auch durch die rötliche Färbung dieser Pflanzen angedeutet und es ist ja bekannt, daß auch im Experiment auf Zuckerlösungen schwimmende Blätter Anthokyanbildung zeigen. Da Anthokyan ein Gerbstoffderivat ist, erscheint es wahrscheinlich, daß unter dem Einflusse der hohen Salzkonzentrationen im Zellsaft vielleicht eine Kondensation organischer Komponenten zu dem roten Zellfarbstoff stattgefunden hat. Die von anthokyanhaltigen Organen resultierenden kryoskopischen Werte sind unter sonst gleichen Bedingungen immer höher als die von grünen Pflanzen erhaltenen:

	Grüne Organe	Rote Organe
Halochnemum strobilaceum	Δ = 7,25 ⁰	Δ = 8,50 ⁰
Salicornia fruticosa	„ = 4,62 ⁰	„ = 7,48 ⁰
„ herbacea	„ = 4,28 ⁰	„ = 6,55 ⁰

Der osmotische Druck ist erklärlicherweise stark von Ernährungsverhältnissen beherrscht; am Morgen, vor Beginn der Assimilation, sind die Werte andere als am Abend. Ferner verändert die Transpiration den osmotischen Druck. Begreiflicherweise ändern sich die osmotischen Drucke, je nachdem sich die Pflanze im Licht oder im Dunkeln entwickelt. Ich konnte darin Verschiedenheiten erkennen, die auch durch das mikroskopische Bild ergänzt wurden, also z. B. je nachdem in den Zellen Aleuron (*a* in Fig. 181) oder Asparagin (*A* in Fig. 182) angehäuft war, oder fortschreitende Steigerungen im osmotischen Druck, wenn beim enzymatischen Abbau die Stärkekörner in aufeinanderfolgenden Stadien der Korrosion (Fig. 183) gesehen wurden. Turgeszente Blätter von Sedum maximum ergeben Δ = 0,40 ⁰, verwelkte Δ = 0,58 ⁰, frische Stiele dieser Pflanze haben Δ = 0,42⁰, verwelkte 0,70⁰, frische Äste von Cereus Napoleonis Δ 0,40 ⁰, verwelkte 0,57 ⁰. Mit der Reife der Früchte nimmt der osmotische Wert regelmäßig zu (bei Pirus communis vom 9. Mai Δ = 1,031 ⁰ bis zum 11. Juli Δ = 2,460 ⁰) oder ab (Citrus medica Δ der Frucht von 14 mm

Durchmesser = 1,386°, der reifen Frucht = 0,690°). Oder es kann der osmotische Wert (bei Vitis, Opuntia), nachdem er allmählich zugenommen hat, plötzlich auf einen ziemlich hohen Wert springen, wahrscheinlich indem lichtchemisch eine Zerspaltung osmotisch unwirksamer Inhaltstoffe in solche von osmotischer Potenz bei der Reife stattgefunden hat. Auch über die elektrische Leitfähigkeit von Pflanzensäften liegen Versuche vor; es wurde gefunden, daß die spezifische Leitfähigkeit von Säften aus Pflanzenwurzeln immer beträchtlich geringer ist als des aus oberirdischen Pflanzenorganen stammenden Saftes. Auf Anregung Botazzis unternahm Nicolosi eine Reihe solcher Bestimmungen und fand: bei dem ausgedrückten Saft von Keimwurzeln von Ricinus communis mit zwei kaum entwickelten Keimblättern war $\Delta = 0{,}415^0$, $K_{22,5^0} = 117{,}9 \cdot 10^{-4}$; wenn die Pflänzchen außer den Keimblättern auch die zwei ersten Blättchen entwickelt hatten, war $\Delta = 0{,}68^0$, $K_{24,5^0} = 104{,}7 \cdot 10^{-4}$. Hypokotyl derselben Pflanze mit kaum entwickelten Keimblättern $K_{22,5^0} = 91 \cdot 10^{-4}$, Saft des Epikotyls mit Plumula $K_{24,5^0} = 125 \cdot 10^{-4}$. Saft des Hypokotyls mit entwickelten Keimblättern und ersten Blättchen $\Delta = 0{,}455^0$, $K_{24,5^0} = 167 \cdot 10^{-4}$, Saft des Hypokotyls vom Einsetzen der Keimblätter 6 bis

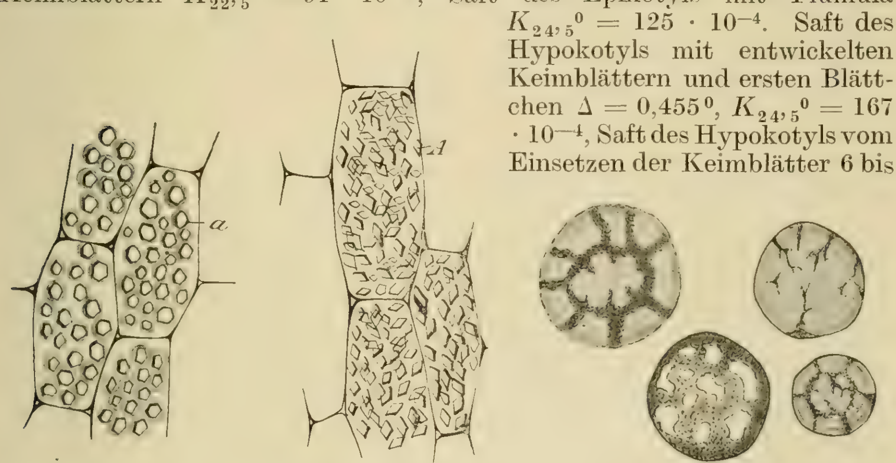


Fig. 181. Zellen mit Aleuron. Fig. 182. Asparagin in den Zellen etiolierter Keimpflanzen. Fig. 183. Durch enzymatischen Abbau korrodierte Stärkekörner.

8 cm abwärts $\Delta = 0{,}77^0$ $K_{24,5^0} = 169 \cdot 10^{-4}$. Saft des Stammes (Holz und Mark) von Cacalia anteuphorbium $\Delta = 0{,}69^0$, $K_{25^0} = 118{,}7 \cdot 10^{-4}$. Saft von Rinde und Bast $K_{25^0} = 118{,}3 \cdot 10^{-4}$. Milchsaft von Euphorbia helioscopia $K_{22,5^0} = 233 \cdot 10^{-4}$. Milchsaft von Ficus sicomorus $K_{24,5^0} = 93{,}9 \cdot 10^{-4}$. Saft der Blätter von Gasteria maculata $\Delta = 0{,}28^0$, $K_{24^0} = 63{,}6 \cdot 10^{-4}$, Saft des Stammes von Bulbine frutescens $\Delta = 0{.}03^0$, $K_{22^0} = 185{,}4 \cdot 10^{-4}$. Saft der Blätter $\Delta = 0{,}45^0$, $K_{22^0} = 118{,}3 \cdot 10^{-4}$. Es besteht also eine große Verschiedenheit der Werte der Gefrierpunktserniedrigung und der elektrischen Leitfähigkeit, je nachdem der osmotische Druck des Saftes vornehmlich von Elektrolyten oder von Nichtleitern herrührt.

Mit Hilfe des *osmotischen Druckes, welcher auf semipermeable Membranen* (Fig. 184) *ausgeübt wird*, wäre es vielleicht möglich, die *quantitative biochemische Analyse der Mineralsalze* zu vereinfachen. Möglicherweise ist dazu das von K. Rosenberg zu Demonstrationszwecken angegebene einfache Osmometer (Fig. 185) geeignet[1]).

[1]) K. Rosenberg, Experimentierbuch für den Unterricht aus Naturlehre. Wien 1912, p. 77.

Bei dieser Gelegenheit sei auf einen von mir konstruierten Apparat (Fig. 186) aufmerksam gemacht, welcher zu quantitativen Messungen sehr geeignet wäre, wenn es gelänge, etwa nach dem Vorgange von Pfeffer oder von Morse und Horn[1]), eine dauerhafte semipermeable Membran herzustellen.

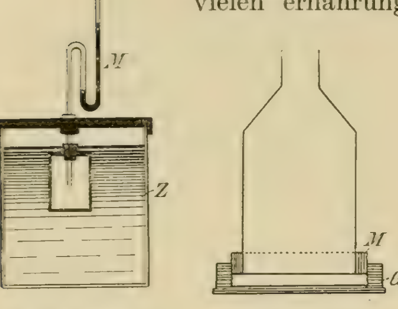


Fig. 184. Semipermeable Membran nach Pfeffer. M = Manometer; Z = Thonzelle.

Fig. 185. Rosenbergs semiperm. Membran (E. Heilpern del.) M = Membran; G = Kollodiumgefäß.

Bei vielen ernährungsphysiologischen Versuchen mit einer Salzlösung ist es von Wert, den Betrag des durch das Wurzelsystem aufgenommenen Salzquantums einfach und schnell zu bestimmen. Ein zylindrisches Gefäß trägt eine Glasplatte, die in der Mitte eine weitere, in der Peripherie eine Reihe kleinerer Bohrungen besitzt; die weitere Bohrung trägt einen Kautschukstöpsel, in den eine feingraduierte Meßröhre eingesetzt ist, welche ihrerseits wieder luftdicht in einer Tonzelle Z befestigt ist; dieser letzteren wurde vorher die semipermeable Membran eingelagert (sei es, daß sie mit Kupferchlorid gefüllt in Ferrozyankalilösung eingetaucht worden war, sei es, daß durch die Lösungen der elektrische Strom durchgeleitet wurde, wobei die beiden Lösungen, innerhalb der Tonwand miteinander in Kontakt geratend, das Ferrozyankupferhäutchen bilden); die äußeren peripherischen Bohrungen dienen zur Aufnahme der angekeimten Samen, deren Würzelchen durch das Loch in die Nährlösung eintauchen, der freibleibende Raum wird mit paraffinierter Watte oder dergleichen gedichtet.



Fig. 186. Grafes Apparat zur quantitativen Bestimmung der Entnahme von Mineralstoffen.

Das zylindrische Gefäß sowohl als auch die semipermeable Zelle sind mit derselben Lösung gefüllt, die in der Meßröhre zu Beginn des Versuches bis zu einer bestimmten Marke reicht. Das ganze Gefäß samt Pflanzen befindet sich unter einer Glocke; die Verluste durch Transpiration können bei länger dauernden Versuchen ersetzt werden. Nehmen nun die sich entwickelnden Pflanzen Mineralstoffe aus der Nährlösung auf, so sinkt die Konzentration im Kulturgefäß im Vergleich zur Konzentration der Lösung innerhalb der Zelle; es erfolgt also in diese von außen eine Wassereinströmung, der aber nur das Wasser folgen kann, nicht die gelösten Stoffe, bis sich ein Gleichgewicht einstellt; mit fortdauernder Mineralstoffentnahme wird das Gleichgewicht wieder verschoben und die Höhe der Wassersäule in der Meßröhre S bei Abbruch des Versuches gibt die Menge der aufgenommenen Mineralstoffe an, da ein Parallelismus zwischen der Höhe der Wassersäule und der Menge der verschwundenen Mineralstoffe besteht. Es ist nur notwendig, ein für allemal durch quantitative

[1]) Morse und Horn, Amer. chemic. Journ. **26**, 89 (1901); Morse und Frazer ebendas. **28**, 1 (1902), **34**, 1 (1905).

Analyse die Parallelität dieser beiden Meßwerte zu bestimmen, um zu absoluten Zahlen zu gelangen. Selbstredend ist diese Methode nicht nur für einzelne Salze, sondern für jede Nährlösung anwendbar, wenn einmal das Zahlenverhältnis zwischen Wasserhöhe und Mineralstoffentnahme dafür tabellarisch festgestellt worden ist. Es ist auf diese Weise auch möglich, die von Monnier und Deleano und anderen Autoren festgestellte Wanderung von Mineralstoffen aus der Pflanze in die Nährlösung zu verfolgen und sichtbar zu machen; durch entsprechende Wägungen des ganzen Apparates ist es auch hier notwendig, den Betrag der Transpiration festzustellen. Eine große Schwierigkeit besteht allerdings in der Herstellung der halbdurchlässigen Membranen, eine Schwierigkeit, die zu überwinden mir erst in ganz wenigen Fällen gelungen ist.

XXVI. Reaktion von Säften gegen Indikatoren.

Sehr häufig kommt man in die Lage, die *Reaktion von Säften oder Ausscheidungen gegen Indikatoren* zu bestimmen; im pflanzenphysiologischen Laboratorium sind aber in der Regel nur die von der Maßanalyse her gebräuchlichen Indikatoren in Verwendung, während die Säfte häufig von einer solchen Beschaffenheit sind, daß uns nur andere Indikatoren Anhaltspunkte zu ihrer Beurteilung geben können. Aus der folgenden Tabelle können wir durch Vergleich die H^+-Ionenkonzentration des zu prüfenden Saftes innerhalb enger Grenzen ermitteln. Wenn wir eine Säure mit einer Lauge titrieren, soll uns der zugesetzte Indikator den Punkt anzeigen, wo wir die genau äquivalente Menge der Base zugesetzt haben und umgekehrt; aber der Äquivalenzpunkt ist nur bei starken Basen und Säuren mit dem Neutralitätspunkt identisch, wenn also Säure und Base die gleiche Dissoziationskonstante besitzen; anders, wenn Säuren und Basen verschiedener Stärke sich miteinander zur Salzbildung vereinigen; das entstandene Salz ist dann wohl chemisch neutral, reagiert aber sauer, wenn die Dissoziation der Säure überwog, alkalisch, wenn die der Base stärker war. Kennen wir die Dissoziationskonstante von Säure und Base, so können wir für jede Konzentration der Salzlösung den dazugehörigen H^+-Ionengehalt berechnen.

Titrieren wir z. B. die schwache Borsäure mit der starken Natronlauge [1]), so können wir den H^+-Ionengehalt einer $\frac{n}{10^{-4}}$ Natriummetaboratlösung rechnerisch ermitteln. Die Hydrolysenkonstante von $NaBO_2$: $K = \frac{k\text{-Wasser}}{k\text{-Säure}}$, k-Wasser $= 1{,}2 \cdot 10^{-20}$ (25° C), k-Borsäure $= 1{,}7 \cdot 10^{-12}$ (25°); $K = \frac{a^2 c}{1-a}$, a = Hydrolysengrad, c = molekulare Konzentration der Salzlösung.

$$C_{OH} = a \cdot c \quad a = \sqrt{\frac{1}{c}\frac{k\text{-Wasser}}{k\text{-Säure}}}, \quad C_{OH} = \sqrt{\frac{k\text{-Wasser}}{k\text{-Säure}}} \quad \text{oder}$$

$$C_{H+} = \frac{kw}{C_{OH}} = \sqrt{\frac{k\text{-Wasser} \times k\text{-Säure}}{c}}, \quad C_{H+} = \sqrt{\frac{1 \cdot 2 \times 10^{-20} \cdot 1 \cdot 7 \times 10^{-12}}{10^{-4}}}$$

$$C_{H+} = 1 \cdot 4 \times 10^{-14}.$$

[1]) Nach H. Friedenthal, Methoden zur Bestimmung der Reaktion tierischer und pflanzl. Flüssigkeiten, Abderhaldens Biochem. Arbeitsmeth. I, 541.

C_{H^+} g in ccm	$\frac{2n}{10^{-3}}$	$\frac{n}{10^{-3}}$	$\frac{n}{10^{-4}}$	$\frac{n}{10^{-5}}$	$\frac{n}{10^{-6}}$	$\frac{n}{10^{-7}}$	$\frac{n}{10^{-8}}$	$\frac{n}{10^{-9}}$
Alizarin	grüngelb	—	—	—	—	—	—	bräunlichgelb
Alizarinblau S	bräunlichrot	gelblich, fast farblos	—	—	—	—	—	—
Alizaringrün B	lila	fleischrot	—	—	—	—	—	—
Alizarinsulfos. Natron	gelbgrün	—	—	—	—	—	braun	rot
Alkaligrün	dunkelgrün	grün	—	—	—	hellgrün	schwach hellgrün	ganz schw. hellgrün
Alkannin	rosa	—	—	—	—	—	—	—
Azolithmin	rosa	—	—	—	—	—	—	rosa, Stich violett
Benzopurpurin B	blau	blauviolett	violett	—	rotviolett	rosa	gelb, Stich rot	—
Bittermandelölgrün	gelbbraun	—	grün	blau	—	—	—	—
Cochenille	gelb	—	—	—	—	—	bräunl. rosa	lila
Crocein	blau	rosa	—	—	—	—	—	—
Curcumein	lila	rotorange	gelb	—	—	—	—	—
Cyanin	farblos	—	—	—	—	—	—	—
Dimethylamidoazobenzol	himbeerrot	—	—	—	fleischfarben	goldgelb	—	—
Echtrot	gelbrot	gelbbraun	rot	—	—	—	—	—
Eosinmethylenblau	grün	hellblau	blau	—	blauviolett	—	—	—

$\frac{n}{10^{-10}}$	$\frac{n}{10^{-11}}$	$\frac{n}{10^{-12}}$	$\frac{n}{10^{-13}}$	$\frac{n}{10^{-14}}$	$\frac{n}{10^{-15}}$	$\frac{n}{10^{-16}}$	$\frac{n}{10^{-17}}$	$\frac{5n}{10^{-18}}$	
blaßlila	lila	—	—	—	violett	—	blau, Stich violett	blau	—
grünlich	schw. grün	—	grün	—	violett	blau	blaugrün	grün	Alizarinblau färbt in den sauren und neutralen Stufen sehr schwach.
—	—	—	—	—	bräunlichgelb	bräunl., dann grün	—	—	—
—	—	—	—	lila	violett	—	—	—	—
Spur grünl., dann farblos	—	—	—	—	—	—	farblos	—	—
—	—	rotviolett	violett	blau	—	—	—	—	—
violett	blauviolett	blau	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	rosa	—	—
—	—	—	—	—	blau, dann heller	blau, schnell farblos	farblos	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	Gesättigte Lösg., 2 Tropfen.
—	—	—	—	—	—	rotviolett	violett	—	—
—	—	—	—	—	—	—	bräunl.-rot	grünlich	—
Spur hellblau, fast farblos	violett blau	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	Sehr verdünnte Indikatorlösg.
—	—	—	—	—	—	—	—	—	Rotfärbung nach der alkal. Seite immer dunkler, 2 Tropfen.
—	—	—	—	—	—	—	violett	lilarot	—

C_{H^+} g in ccm	$\frac{2n}{10^{-3}}$	$\frac{n}{10^{-3}}$	$\frac{n}{10^{-4}}$	$\frac{n}{10^{-5}}$	$\frac{n}{10^{-6}}$	$\frac{n}{10^{-7}}$	$\frac{n}{10^{-8}}$	$\frac{n}{10^{-9}}$
Fluoreszein	grün-gelb	—	—	—	—	—	—	grüne Fluoresz.
Gallein	orange	—	—	gelb	gelb, Stich rot	orange-rot	rot	rot, Stich violett
Guajaktinktur	farblos	—	—	—	—	—	—	—
Hämatein	him-beerrot	rosa	grün-lich-grau	grün-gelb, dann grau	—	grün-gelb	—	bräun-lich, Stich rot
Helianthin I	rosa	orange	—	—	—	—	—	—
Helianthin II	rosa	grün-gelb	—	—	—	—	—	—
Jodeosin	grün-gelb	rosa	—	—	—	—	—	—
Kongorot	blau	—	—	—	—	violett	schar-lachrot	—
Lakmoid	rosa	—	—	—	—	—	violett	violett blau
Magdalarot	gelb	rosa	—	—	—	rot, Fluores-zenz	—	—
Mauvein.	gelb	grün	grün-blau	blau	violett	—	—	—
Methylgrün.	grün-gelb	—	grün	blau	—	—	—	—
Methylorange	rosen-rot	—	—	—	orange-rot	orange	gelb	—
Methylviolett	gold-gelb	zeisig-grün	grün-blau	blau	violett	—	—	—
α-Naphtholbenzoïn . . .	bräunl. gelb	—	—	—	—	—	—	—

$\frac{n}{10^{-10}}$	$\frac{n}{10^{-11}}$	$\frac{n}{10^{-12}}$	$\frac{n}{10^{-13}}$	$\frac{n}{10^{-14}}$	$\frac{n}{10^{-15}}$	$\frac{n}{10^{-16}}$	$\frac{n}{10^{-17}}$	$\frac{5n}{10^{-18}}$	
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	blau-violett, allmähl. braun	blau-violett	—	blau	—	—
—	grün-gelb	—	—	—	—	—	—	—	—
hell-lila	violett	rot-violett	rotviol., später rot-braun	rot-violett, schnell braun	dunkel-rot, violett	dunkel-rot, später braun	dunkelr., später braun, dann gelbgrün	blau-violett	Die meisten Farben sind nicht lange beständig.
—	—	—	—	—	orange-rot	rot	—	—	—
—	—	—	—	—	—	bräunl.-gelb	lila	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	Rosafärbg., allmähl. stärker.
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
blau, Stich violett	blau	—	—	—	—	—	—	—	Allmähl. Übergänge, keine Umschläge.
—	—	—	—	—	—	—	—	lila	—
—	—	—	—	—	—	—	violett-rot	gelbrot	Färbungen in den drei letzten Kolonnen verblassen allmählich.
—	—	—	—	blau, sehr langsam heller	blau, allmählich farblos	hellblau, sehr schnell farblos	farblos	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	farblos	Sehr verdünnte Indikatorlösung 50 mg auf 100 H_2O, sonst Umschläge unscharf.
—	—	—	—	—	—	violett, langsam farblos	violett, schnell farblos	farblos	—
—	—	—	grün	grün-blau	—	—	—	—	—

C_{H+} g in ccm	$\frac{2n}{10^{-3}}$	$\frac{n}{10^{-3}}$	$\frac{n}{10^{-4}}$	$\frac{n}{10^{-5}}$	$\frac{n}{10^{-6}}$	$\frac{n}{10^{-7}}$	$\frac{n}{10^{-8}}$	$\frac{n}{10^{-9}}$
Neutralrot.	cyan-blau	blau-violett	him-beerrot	—	—	—	—	—
p-Nitrophenol	farblos	—	—	—	—	—	—	hell-grünl.
Phenacetolin	gelb	—	—	—	—	bräun-lich-gelb	bräun-lichrot	rosen-rot
Phenolphthalein	farblos	—	—	—	—	—	—	—
Rosolsäure	gelb	—	—	—	hell-bräun-lich	—	—	—
Safranin	blau	lila	rosen-rot	—	—	—	—	—
Säurefuchsin.	lila	lilarot	—	—	—	—	—	—
Tetrabromphenol-phthalein	farblos	—	—	—	—	—	—	—
Thymolphthalein. . . .	—	—	—	—	—	—	—	—
Tropäolin	rot-violett	fleisch-rot	gelb	—	—	—	—	—
Tropäolin 0	gelb	—	—	—	—	—	grün-gelb	—
Tropäolin 00	rot-violett	—	him-beerrot	fleisch-rot	gelb	—	—	—
Tropäolin 000	rosa	gold-gelb	—	—	—	—	—	—
Trinitrobenzol	farblos	—	—	—	—	—	—	—

$\frac{n}{10^{-10}}$	$\frac{n}{10^{-11}}$	$\frac{n}{10^{-12}}$	$\frac{n}{10^{-13}}$	$\frac{n}{10^{-14}}$	$\frac{n}{10^{-15}}$	$\frac{n}{10^{-16}}$	$\frac{n}{10^{-17}}$	$\frac{5n}{10^{-18}}$	
rosenrot	orange	gelb	—	—	—	—	—	—	—
grüngelb	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	violettrot	violett, langsam heller	farblos	—	—	—
—	—	rosa	rot	—	—	—	rot, schnell farblos	rot einfallend, darauf gleich farblos	Verdünnte Lösung, sonst Niederschlag i. starken Stufen. Stufe 8 mit ein. Tropfen farblos, bei weiter. Zusatz ganz schwach rosa.
rosa	rot	—	—	—	—	—	rot, langsam heller	rot, schnell farblos	—
—	—	—	—	—	—	—	—	violett	—
—	—	—	lilarot, langsam blasser	—	blaß lila, später farblos	lila einfallend, später farblos	farblos	—	—
—	—	violett	—	—	—	violett, langsam farblos	violett, schnell farblos	farblos	Stufe 8 bei weit. Zus. schwach violett.
—	—	—	hellblau	blau	—	—	—	blau, schnell farblos	—
—	fleischrot	rosenrot	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	orange	rotorange	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	fast farblos	—
—	—	—	—	—	orange	orangerot	—	—	—
—	—	—	—	—	—	orange	rotorange	fast farblos	—

Tabelle der Farbenumschläge.

Indikator	$2 \frac{n}{10^{-3}}$ H+	$\frac{n}{10^{-3}}$ H+	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	10^{-11}	10^{-12}	10^{-13}	10^{-14}	10^{-15}	10^{-16}	10^{-17}	5 mal 10^{-18}
Mauvein . . .	gelb	grün	grün-blau	blau	violett	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	violett-rot	gelbrot
Kongorot . . .	blau	—	—	—	blau	violett	scharlach	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Alizarinsulfosaures Natron	gelb-grün	—	—	—	—	—	braun	rot	—	—	—	—	lila	violett	—	—	—
Alizarin-Rosolsäure	gelb	—	—	—	hell-bräunl.	—	—	hell-bräunl.	rosa	rot	—	—	—	—	rot, langs. heller	rot, schnell farblos	—
Phenolphthalein . .	farblos	—	—	—	—	—	—	—	—	farblos	rosa	rot	—	—	—	rot, schnell farblos	rot einfallend, gleich dar. farbl.
α-Naphtholbenzoin . . .	bräunl.-gelb	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	grün	grün-blau	—	—	—	—
Tropäolin 0 . .	gelb	—	—	—	—	—	grün-gelb	—	—	—	—	—	grün-gelb	orange	rot-orange	—	—
Trinitrobenzol .	farblos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	farblos	orange	rot-orange	fast farblos
Benzopurpurin .	blau	blau-violett	violett	—	rot-violett	rosa	gelb, Stich rot	—	—	—	—	—	—	—	gelb, Stich rot	rosa	—
Safranin. . . .	blau	lila	rosen-rot	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	rosen-rot	violett

Wir suchen daher bei Titration von Borsäure einen Indikator, welcher bei $C_{H+} = 1 \cdot 10^{-14}$ eine möglichst scharfe Farbenänderung erleidet. Die vorstehenden Tabellen (S. 480—486) von Salm und Friedenthal geben Indikatoren für alle möglichen H^+-Ionenkonzentrationen an, der Doppelstrich bezeichnet den scharfen Farbenumschlag, und durch Verwendung solcher Indikatoren, welche alle im Handel zu haben sind und deren Bereitung in dem kleinen Buch von F. Glaser, Indikatoren der Azidimetrie und Alkalimetrie, Wiesbaden 1901, nachgesehen werden kann, ist es leicht möglich, den H^+-Ionenkonzentrationsgrad des zu prüfenden Saftes zu erkennen. Bei der Schärfe der Indikatoren ist es natürlich nicht gestattet, die betreffenden Pflanzenteile etwa mit Glaspulver oder mit Sand zu zerreiben, da von beiden Medien an den Saft lösliche Bestandteile abgegeben werden, welche auf die Indikatoren wirken. Man muß das Zerreiben für sich in der Achatreibschale vornehmen. Linsbauer und Grafe verwendeten für die Aziditäts-, respektive Alkaleszenzprüfung der ausgepreßten filtrierten Säfte in Vergleichsproben gleichgroße (5 ccm fassende) mit eingeriebenem Stöpsel verschließbare Röhrchen, in die je die gleiche Menge Saft und drei Tropfen der Indikatorlösung getan wurden. Nach dem Durchmischen wurde die entstandene Färbung gegen eine weiße Unterlage kontrolliert und mit dem nächstliegenden Ton in den Raddeschen Farbentabellen verglichen.

Indikatoren mit sehr scharfen Umschlägen sind Dimethylamidoazobenzol, Neutralrot, Rosolsäure und Thymolphthalein. Starke Mineralsäuren können mit ätzenden Alkalien und alkalischen Erden gegen Methylorange sowohl als gegen Phenolphthalein und Lakmoid titriert werden, aber die Laugen müssen bei Lakmoid und Phenolphthalein frei von Kohlensäure sein, wenn nicht in der Hitze titriert wird, wobei die Kohlensäure entweicht. Die stärkeren organischen Säuren, wie Oxal-, Milch-, Wein-, Zitronensäure, lassen sich nur gegen Lakmoid oder Phenolphthalein, schwache Säuren nur gegen letzteres titrieren. Ebenso sind bei den starken Basen, den Hydroxyden der Alkalien und Erdalkalien alle drei Indikatoren anwendbar, bei Aminbasen und bei Ammoniak nur Methylorange, allenfalls Lakmoid. Bei kleinen Mengen Alkaloiden verwendet man am besten Jodeosin (außer bei den Chinaalkaloiden), dessen Umschlag (Säure — orange, Alkali — kirschrot) scharf wird, wenn man die Titration im Schüttelzylinder bei Gegenwart von Äther ausführt (2 mg Jodeosin auf 1000 ccm säurefreien Äthers); für Chinaalkaloide eignet sich Hämatoxylin in alkoholischer Lösung 1 : 1000.

XXVII. Anhang. Die Herstellung von Normallösungen.

Unter Normallösungen, wie sie in der Maßanalyse verwendet werden, versteht man Lösungen, die im Liter ein Grammäquivalent (bezogen auf H = 1) des betreffenden Stoffes gelöst enthalten. Z. B. Salzsäure HCl: eine normale Salzsäure enthält das Molekulargewicht von HCl = 36,5 g im Liter gelöst, entsprechend 1 Grammatom H; Salpetersäure HNO_3 ebenso 63 g HNO_3 im Liter, Schwefelsäure H_2SO_4 ein halbes Grammolekül $H_2SO_4 = \frac{98}{2} = 49$ g, entsprechend einem

Grammatom H. im Liter gelöst. Kalilauge KOH enthält 56 g Ätzkali im Liter; Natriumkarbonat Na_2CO_3 ein halbes Grammolekül Na_2CO_3 $= \frac{106}{2} = 53$ g. Um die Menge des im Liter zu lösenden Kaliumpermanganats $KMnO_4$ zu bestimmen, müssen wir auf seine Wirkungsweise zurückgehen, welche durch die Gleichung ausgedrückt ist $2\,KMnO_4 = K_2O + 2MnO + 5O$. Zwei Grammoleküle $KMnO_4$ entwickeln also 5 Grammatome Sauerstoff, entsprechend 10 Grammatomen Wasserstoff, und $^1/_5$ Grammolekül $KMnO_4 = \frac{158,15}{5} = 31,63$ g entwickelt $^1/_2$ Grammatom Sauerstoff, entsprechend 1 Grammatom Wasserstoff. Wir müssen also 31,63 g $KMnO_4$ im Liter auflösen, um eine normale Permanganatlösung zu erhalten. Da die normalen Lösungen vielfach zu stark sind, bereitet man durch Auflösen der halben, zehntel, zwanzigstel, hundertstel Menge $\frac{n}{2}, \frac{n}{10}, \frac{n}{20}, \frac{n}{100}$ Lösungen.

Als m o l a r e Lösungen bezeichnen wir die Auflösung des Molekulargewichtes im Liter ohne Rücksicht auf die Äquivalenz. Es ist klar, daß 1 ccm einer nHCl einem Kubikzentimeter jeder anderen Normallösung äquivalent ist, nicht aber z. B. 1 ccm molarer HCl 1 ccm molarer $Ba(OH)_2$, denn beide beziehen sich nicht auf dieselbe Äquivalenzeinheit, während alle n o r m a l e n Lösungen auf 1 Grammatom Wasserstoff bezogen sind.

Alle Normallösungen der Alkalimetrie und Azidimetrie stellt man unter Verwendung von besonders gereinigter und getrockneter Soda her, einem Salz, das leicht absolut rein hergestellt und unzersetzt aufbewahrt werden kann. Um z. B. eine normale Salzsäure herzustellen, verdünnt man reine konzentrierte Salzsäure mit Wasser unter Verwendung eines Aräometers in einem hohen Zylinder bis auf zirka 1,020 spezifisches Gewicht[1]). Nun wägt man in einem Wägegläschen mit eingeschliffenem Stöpsel diejenige Menge der reinen, getrockneten Soda ab, die ungefähr 35—40 ccm der Säure entsprechen wird (1000 ccm nHCl entsprechen 1000 ccm nNa_2CO_3, also einer Lösung von 53 g Na_2CO_3, daher entsprechen 40 ccm nHCl einer Menge von 2,12 g Na_2CO_3). Man wägt also auf der analytischen Wage eine Sodamenge ab, die um 2 g herumliegt (lieber etwas weniger), löst sie in einem Becherglas in zirka 100 ccm destillierten Wassers auf, fügt 5—6 Tropfen Methylorange hinzu, bis die Lösung ganz schwach gelb erscheint, und läßt die Salzsäure unter beständigem Umrühren aus der Bürette zufließen bis der Umschlag von Gelb in O r a n g e erfolgt, liest den Stand in der Bürette ab und fügt einen oder zwei Tropfen der Säure hinzu, bis eben die Rosanuance auftritt. Angenommen wir hätten zur Titration von 2,1132 g Na_2CO_3 39,20 ccm Salzsäure gebraucht. Wäre die Säure richtig normal gewesen, so hätten wir 39,83 ccm nach der Propor-

[1]) Den Gehalt einer Salzsäure an Chlorwasserstoff in Gewichtsprozenten erfährt man, wenn man ihr spezifisches Gewicht mit dem Aräometer bei Zimmertemperatur bestimmt und die beiden ersten Dezimalen mit 2 multipliziert. Zeigt also die Salzsäure z. B. das sp. G. 1,02, so enthält sie 4 % HCl, eine Säure vom sp. G. 1,15 ist 30 prozentig etc.; bei Kali- oder Natronlauge lautet diese empirische Regel noch einfacher, hier drückt die Zahl hinter dem Dezimalpunkt (die Mantisse) direkt die Prozente KOH etc. aus, so daß also eine Kalilauge vom sp. G. 1,01 ein Prozent KOH enthält, eine solche vom sp. G. 1·19 ca. 20 % u. s. f. (nur bei den höchsten Konzentrationen ist die Übereinstimmung mangelhaft).

tion 53,05 : 1000 = 2,1132 : x verbrauchen müssen. Da wir nur 39,2 ccm verbraucht haben, ist unsere Säure zu stark, wir müßten also Wasser hinzufügen. Gewöhnlich tut man das aber nicht, sondern berechnet folgendermaßen den Faktor: da 39,2 ccm der von uns verbrauchten Säure 39,83 ccm exakt normaler entsprechen, so entspricht 1 ccm unserer Säure x ccm exakt normaler, nämlich 1,01607 ccm. Mit dieser Zahl müssen wir also jeden Kubikzentimeter der von uns hergestellten Säure multiplizieren, um den exakt normalen Titer zu erhalten. Diese Zahl wird also als ,,Faktor" auf die Säureflasche geschrieben. Um eine n-Natronlauge (40,06 g NaOH im Liter) herzustellen, wägen wir auf der Handwage 46 g reinsten Ätznatrons (selbst dieses ist immer mit einer Schicht Natronkarbonat überzogen) ab, lösen in 1000 ccm Wasser und lassen die Lösung eine Stunde neben der eben hergestellten n-Salzsäure stehen. Dann pipettiert man 40 ccm der Lauge ab und titriert gegen Methylorange mit der Säure. Angenommen wir hätten für die 40 ccm Lauge 39,87 ccm Säure verbraucht, also mit dem Faktor multipliziert, 40,5 ccm exakt normaler Säure, so müssen zu 40 Kubikzentimetern Lauge noch 0,5 ccm Wasser hinzugefügt werden, also zu 1000 ccm Lauge 12,5 ccm Wasser, um die Lauge exakt normal zu machen. Man kann statt dessen natürlich auch hier den Faktor bestimmen.

Um eine $\frac{n}{10}$ $KMnO_4$-Lösung herzustellen, müssen wir 3,163 g des in hohem Reinheitsgrade käuflichen Salzes in 1000 ccm Wasser lösen. Da aber das Wasser gewöhnlich Spuren oxydabler Substanzen enthält, wägen wir rund 3,2 g $KMnO_4$ ab, lösen auf und lassen nun 8—14 Tage stehen, bevor wir die genaue Einstellung, am besten mit $\frac{n}{10}$ Oxalsäure, vornehmen. Von dieser zweibasischen Säure $(COOH)_2 + 2\,H_2O = 126{,}05$ lösen wir also den 20 ten Teil = 6,303 g im Liter auf. Nachdem wir eventuell noch die Exaktheit dieser Lösung durch Titration mit exakt $\frac{n}{10}$ Natronlauge überprüft haben, pipettieren wir 25 ccm derselben in ein Becherglas ab, fügen 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 : 4) hinzu, verdünnen mit kochendem Wasser auf zirka 200 ccm und lassen die zu stellende Permanganatlösung aus der Bürette zufließen. Anfangs bleibt die Lösung mehrere Sekunden rot, wird dann beim Umrühren entfärbt, und von da an wird jeder zufallende Tropfen sofort farblos. Sobald ein Tropfen beim Umrühren nicht mehr entfärbt wird, die ganze Lösung sich also rosa färbt, ist die Oxydationsreaktion der Oxalsäure beendigt. Da zur Oxydation von 1 Grammolekül Oxalsäure 1 Grammatom Sauerstoff erforderlich ist und 1000 ccm $\frac{n}{10}$ Oxalsäure $^1/_{20}$ Grammolekül Oxalsäure enthalten, so entsprechen 1000 ccm $\frac{n}{10}$ Oxalsäure $^1/_{20}$ Grammatom Sauerstoff = 0,8 g und 1 ccm $\frac{n}{10}$ Oxalsäure daher 0,0008 g Sauerstoff. Sind z. B. zur Oxydation unserer 25 ccm Oxalsäure 24,3 ccm Permanganatlösung verbraucht worden, so entsprechen diese 24,3 ccm = $25 \cdot 0{,}0008$ g = 20 mg Sauerstoff oder 1 ccm Permanganatlösung = $\frac{0{,}020}{24{,}3} = 0{,}8304$ mg Sauerstoff.

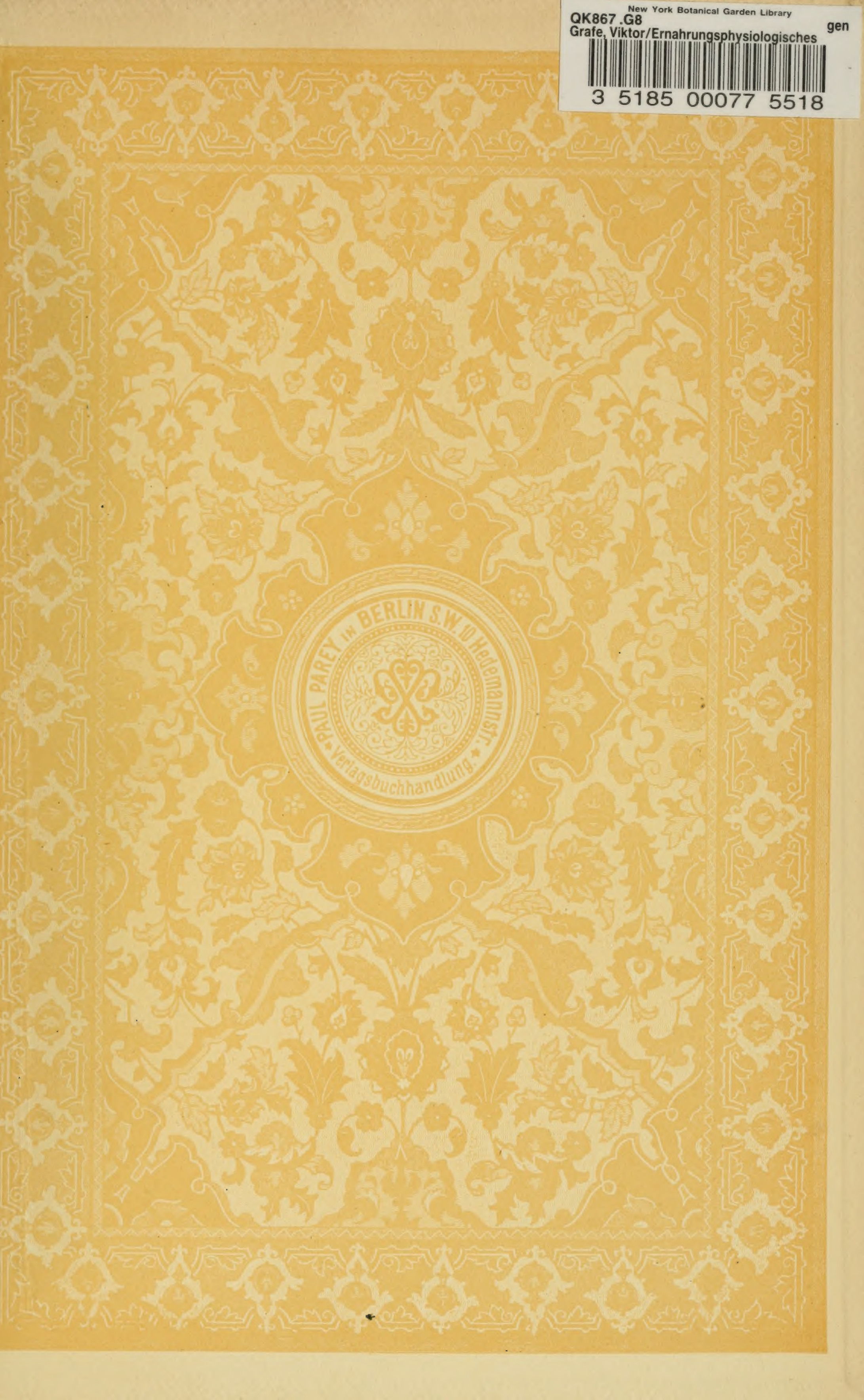
Als Grundlage der schärfsten Bestimmungsmethode, der jodometrischen, ist die Gleichung: $2\,Na_2S_2O_3 + J_2 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6$ anzusehen, d. h. das in seiner Lösung (Jod löst sich in Jodkalilösungen überaus leicht) braunschwarze Jod wird durch Natriumthiosulfat in das farblose Jodnatrium und Tetrathionat verwandelt, ein Umschlag, der sich durch Verwendung des mit Spuren freien Jods tiefblau, mit größeren Mengen schwarzgrün sich färbenden Stärkekleisters überaus scharf zu erkennen ist. Man stellt eine $\frac{n}{10}$ Natriumthiosulfatlösung her, indem man von dem Salze $Na_2S_2O_3 + 5\,H_2O$, von dem nach der Gleichung 1 Grammolekül einem Grammatom Jod entspricht, den zehnten Teil des Molekulargewichtes $\frac{248{,}3}{10}$ = rund 25 g im Liter auflöst und nach einiger Zeit den Titer mit dem kristallisiert sehr rein erhältlichen Kaliumbijodat bestimmt, von dem 389,858 g äquivalent sind 1512,5 g Jod. Löst man 3,2488 g reinen Kaliumbijodats in 1000 ccm Wasser auf, (d. i., da man auf ein Grammatom beziehen muß und 1 Molekül Kalibijodat 12 Atome Jod ausscheidet, 389,858 : 12 für eine Normal-, und weiter durch 10 dividiert, für eine Zehntelnormallösung), so scheiden 10 ccm dieser Lösung beim Versetzen mit überschüssigem Jodkali und Salzsäure genau so viel Jod aus wie in 10 ccm einer $\frac{n}{10}$ Jodlösung enthalten sind; 1—2 g reines Jodkali werden in einem Becherglas in möglichst wenig Wasser aufgelöst, 5 ccm Salzsäure 1 : 5 dazugefügt und dann 20—25 ccm der Bijodatlösung; das Jod scheidet sich sofort quantitativ aus und wird nach Verdünnen mit 200 ccm Wasser mit Natriumthiosulfat zurücktitriert. 20 ccm unserer Kaliumbijodatlösung schieden 0,2537 g Jod aus. Angenommen wir hätten zur Titration 20 ccm Thiosulfat gebraucht, so ist die Natriumthiosulfatlösung exakt zehntelnormal, brauchen wir mehr oder weniger, so ist der Faktor nach der obigen Überlegung zu berechnen. Der Titer der Thiosulfatlösung wird in Grammen Jod ausgedrückt.

Um eine $\frac{n}{10}$ Jodlösung herzustellen, löst man 20—25 g reines Jodkali in möglichst wenig Wasser im Literkolben, fügt zirka 12,7 g Jod dazu, das man auf dem Uhrglas und auf der Handwage abwägt, schüttelt bis zur Auflösung und füllt bis zur Marke auf. Von der gut durchgemischten Jodlösung titriert man 25 ccm mit der $\frac{n}{10}$ Natriumthiosulfatlösung. 25 ccm Jodlösung hätten 25,16 ccm $\frac{n}{10}$ $Na_2S_2O_3$-Lösung verbraucht, daher ist 1 ccm = 1,0064 ccm einer exakt $\frac{n}{10}$ Lösung.

Sachregister.






PAUL PAREY IN BERLIN S.W. 10 Hedemannstr.
Verlagsbuchhandlung

